



# **Estudo de viabilidade técnico-econômica de uma planta para produção de Pembrolizumab no Brasil**

**Gabrielle Fidalgo Sentieiro**

**Monografia em Engenharia de Bioprocessos**

**Orientadores**

**Flávia Chaves Alves, D.Sc.**

**Ricardo de Andrade Medronho, Ph.D.**

**Mai de 2021**

# **ESTUDO DE VIABILIDADE TÉCNICO-ECONÔMICA DE UMA PLANTA PARA PRODUÇÃO DE PEMBROLIZUMAB NO BRASIL**

***Gabrielle Fidalgo Sentieiro***

Monografia em Engenharia de Bioprocessos submetida ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenheira de Bioprocessos.

Aprovado por:

---

Ana Mehl, D.Sc.

---

Renata Guimarães Ferreira Alvim, M.Sc.

Orientado por:

---

Flávia Chaves Alves, D.Sc.

---

Ricardo de Andrade Medronho, Ph.D.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Maio de 2021

#### Ficha Catalográfica

Sentieiro, Gabrielle F.

Estudo de viabilidade técnico-econômica de uma planta para produção de Pembrolizumab no Brasil/ Gabrielle Fidalgo Sentieiro. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2021

x, 111 p.; il.

Monografia – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2021.  
Orientadores: Flávia Chaves Alves e Ricardo de Andrade Medronho.

1. Pembrolizumab 2. Processo produtivo de anticorpos monoclonais 3. Viabilidade econômica 4. Monografia. (Graduação – UFRJ/EQ) 5. Flávia Chaves Alves e Ricardo de Andrade Medronho.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha família, por todo amor, incentivo e compreensão durante toda essa caminhada da graduação, em especial à minha mãe Rosana, por todo esforço e dedicação para construção do meu futuro.

Ao meu avô Paulo, por todas as oportunidades que me proporcionou, por sempre me motivar a ser uma pessoa melhor e principalmente pela pessoa especial que era.

À minha cachorrinha Pretinha, por todo carinho recebido, estando ao meu lado nos momentos mais difíceis e todos os dias de estudos juntas.

Aos meus orientadores Flávia Alves e Ricardo Medronho, por todo tempo e paciência dedicada para condução deste trabalho.

A todos meus amigos, por terem tornado essa caminhada melhor, mais leve e divertida.

Por fim, agradeço a Deus, pela força de sempre, em especial para concluir essa etapa da graduação e por todas as oportunidades e dificuldades que obtive ao longo desse período que me tornaram o que sou hoje.

Resumo da Monografia apresentada à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenharia de Bioprocessos.

## **ESTUDO DE VIABILIDADE TÉCNICO-ECONÔMICA DE UMA PLANTA PARA PRODUÇÃO DE PEMBROLIZUMAB NO BRASIL**

Gabrielle Fidalgo Sentieiro

Maio, 2021

Orientadores: Prof. Flávia Chaves Alves, D.Sc.

Prof. Ricardo de Andrade Medronho, Ph.D

O Pembrolizumab é um anticorpo monoclonal humanizado desenhado para bloquear uma via biológica chamada morte celular programada-1 (PD-1), ativada na presença de células tumorais. Com o bloqueio desta via, aumenta-se a capacidade do sistema imune de eliminar estas células. Indicado e registrado no Brasil para oito doenças, o Pembrolizumab está incorporado em procedimentos oferecidos no Sistema Único de Saúde (SUS) para apenas uma delas, o Melanoma. Atualmente, grande parte dos recursos destinados à aquisição de medicamentos essenciais do SUS, é comprometido com a compra de anticorpos monoclonais que possuem altos preços praticados, tornando-se gastos muito relevantes para a saúde pública. Diante deste cenário, conclui-se necessário o desenvolvimento de uma plataforma para a produção de anticorpos monoclonais anti PD-1 biossimilares no país, de forma a fornecer ao SUS e ampliar o acesso mais rapidamente aos pacientes. No presente trabalho, foi projetada uma planta para produção do Pembrolizumab no Brasil e realizado o estudo de viabilidade econômica. A sua capacidade foi dimensionada para suprir a demanda brasileira de 17 kg/ano deste produto biológico para quatro indicações terapêuticas, no ano de 2038 (último ano de vida útil considerado para a planta, que corresponde à maior demanda). O processo de produção proposto utiliza o cultivo de células CHO geneticamente modificadas em biorreator *single use* operado em perfusão, com hidrociclone como dispositivo de separação de células; para purificação, empregaram-se processos cromatográficos e com membranas, inativação e filtração viral; por fim, o produto é concentrado, formulado e encaminhado à linha de envase. Com base na demanda projetada e na síntese do processo realizada, os equipamentos foram dimensionados e consumo de matérias-primas necessárias foi calculado. O investimento total e os custos totais de produção foram calculados, resultando em um custo unitário de US\$ 87,84/ frasco-ampola. Pela análise de viabilidade econômica realizada, a construção de uma planta para a produção de Pembrolizumab no Brasil seria economicamente viável, uma vez que o lucro líquido anual calculado foi em média de aproximadamente US\$ 152,6 milhões, valor presente líquido de US\$ 183,53 milhões para uma vida útil da planta de 10 anos, taxa interna de retorno de 29,06% e tempo de retorno do investimento de aproximadamente 2 anos e 4 meses, a partir do início de operação da planta. Além disso, as análises de sensibilidade realizadas para estudar diferentes cenários mostraram que, mesmo para variações acentuadas das variáveis analisadas, a taxa interna de retorno e o valor presente líquido calculados se mantiveram altos e positivos, respectivamente, indicando a robustez do presente projeto.

# ÍNDICE

|   |      |
|---|------|
| Lista de Figuras .....  | viii |
| Lista de Tabelas .....  | ix   |
| 1. INTRODUÇÃO.....  | 1    |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....  | 5    |
| 2.1 Anticorpos .....  | 5    |
| 2.2 Anticorpos Monoclonais .....                                      | 6    |
| 2.3 Pembrolizumab.....  | 9    |
| 2.4 Indicações terapêuticas aprovadas pela Anvisa.....                | 12   |
| 2.5 Biossimilares e perspectiva no cenário brasileiro.....            | 16   |
| 2.6 Sistema de Produção.....  | 22   |
| 2.6.1 Expressão em células animais .....                              | 22   |
| 2.6.2 Cultivo em células animais .....                                | 25   |
| 2.6.3 Processos de purificação .....                                  | 29   |
| 3. ANÁLISE DE MERCADO: PROJEÇÃO DA DEMANDA E PRODUÇÃO<br>ESTIMADA 33  |      |
| 3.1 Melanoma .....  | 35   |
| 3.2 Câncer de pulmão de células não pequenas (CPCNP) .....            | 37   |
| 3.3 Câncer de cabeça e pescoço.....                                   | 39   |
| 3.4 Carcinoma urotelial (UC) .....                                    | 42   |
| 3.5 Projeção da demanda total de Pembrolizumab.....                   | 44   |
| 4. FLUXOGRAMA DO PROCESSO E DIMENSIONAMENTO DOS<br>EQUIPAMENTOS ..... | 46   |
| 4.1 <i>Upstream</i> .....   | 48   |
| 4.1.1 Biorreator principal.....                                       | 49   |
| 4.1.2 Dispositivo de retenção celular.....                            | 52   |

|        |   |    |
|--------|---|----|
| 4.1.3  | Bolsa de equalização (1).....   | 54 |
| 4.1.4  | Biorreator e frascos erlenmeyer para propagação do inóculo.....   | 54 |
| 4.2    | <i>Downstream</i> .....   | 55 |
| 4.2.1  | Clarificação.....   | 56 |
| 4.2.2  | Filtração esterilizante.....  | 56 |
| 4.2.3  | Cromatografia de afinidade – Proteína A .....   | 56 |
| 4.2.4  | Inativação Viral .....  | 58 |
| 4.2.5  | Diafiltração (1).....   | 59 |
| 4.2.6  | Bolsa de equalização (2).....   | 60 |
| 4.2.7  | Cromatografia de troca aniônica.....  | 60 |
| 4.2.8  | Diafiltração (2).....   | 61 |
| 4.2.9  | Bolsa de equalização (3).....   | 62 |
| 4.2.10 | Cromatografia de troca catiônica.....   | 62 |
| 4.2.11 | Filtração viral.....  | 63 |
| 4.2.12 | Bolsa de equalização (4).....   | 64 |
| 4.2.13 | Ultrafiltração/diafiltração .....   | 64 |
| 4.2.14 | Formulação .....  | 66 |
| 4.2.15 | Processamento final .....   | 67 |
| 5.     | ESTIMATIVA DE CUSTOS DE PRODUÇÃO E VIABILIDADE<br>ECONÔMICA .....   | 68 |
| 5.1    | Horizonte de Planejamento do Projeto .....  | 68 |
| 5.2    | Estimativa do Investimento Total .....  | 69 |
| 5.2.1  | Investimentos em desenvolvimento do processo, testes pré-clínicos e<br>clínicos e assuntos regulatórios ..... | 69 |
| 5.2.2  | Investimento para implantação da planta produtiva .....   | 70 |
| 5.2.3  | Custo de aquisição dos equipamentos principais.....   | 72 |
| 5.2.4  | Custos de construção de áreas limpas.....   | 73 |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 5.2.5 | Cálculo do investimento total .....   | 75 |
| 5.3   | Custos de Produção .....  | 76 |
| 5.3.1 | Custos das matérias-primas .....  | 76 |
| 5.3.2 | Custo total de produção .....   | 79 |
| 5.4   | Demonstração de resultados de exercício (DRE) .....   | 80 |
| 5.5   | Fluxo de caixa.....   | 82 |
| 5.6   | Valor presente líquido (VPL) .....  | 86 |
| 5.7   | Taxa interna de retorno (TIR).....  | 86 |
| 5.8   | Tempo de retorno ( <i>Payback</i> ) .....   | 87 |
| 5.9   | Análises de sensibilidade.....  | 87 |
| 5.9.1 | Preço de venda.....   | 87 |
| 5.9.2 | Número de frascos ampolas comercializados.....  | 89 |
| 5.9.3 | Custos para o desenvolvimento do processo, comparabilidade molecular,<br>estudos pré-clínicos e clínicos..... | 90 |
| 6.    | CONCLUSÃO.....  | 93 |
|       | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....  | 97 |



## Lista de Figuras

|  |    |
|--|----|
| Figura 1: Representação de um anticorpo típico IgG. ....   | 6  |
| Figura 2: Esquema simplificado da produção de anticorpos monoclonais através da tecnologia de hibridoma. ....  | 7  |
| Figura 3: Esquema do desenvolvimento dos anticorpos monoclonais. ....  | 8  |
| Figura 4: Desenho do anticorpo monoclonal Pembrolizumab.....   | 11 |
| Figura 5: Mecanismo de ação do Pembrolizumab.....  | 11 |
| Figura 6: Etapas de uma Parceria para o Desenvolvimento Produtivo.....   | 20 |
| Figura 7: Etapas do processo de produção de biofármacos. ....  | 22 |
| Figura 8: Etapas da técnica em Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). ....  | 24 |
| Figura 9: Representação esquemática de um processo de perfusão com equipamento de retenção celular externo ao reator. ....                                 | 27 |
| Figura 10: Visão esquemática de um hidrociclone.....   | 29 |
| Figura 11: Fluxograma do processo produtivo para produção de Pembrolizumab. ....   | 46 |
| Figura 12: Desenho esquemático para processo produtivo no biorreator principal. ....   | 53 |
| Figura 13: Funcionamento do módulo de ultrafiltração/diafiltração.. ....   | 64 |
| Figura 14: Matérias-primas com maior impacto nos custos .....  | 79 |
| Figura 15: Resultado da licitação para o ano de 2020 utilizada para cálculo do preço do Pembrolizumab.....   | 81 |
| Figura 16: Análise de sensibilidade em relação ao preço unitário .....   | 89 |
| Figura 17: Análise de sensibilidade em relação à redução do número de frascos ampolas comercializado frente a demanda anual projetada .....                | 90 |
| Figura 18: Análise de sensibilidade em relação ao custo para desenvolvimento do processo, comparabilidade molecular, estudos pré-clínicos e clínicos ..... | 91 |
| Figura 19: Avaliação dos custos de investimento total do projeto .....   | 92 |

## Lista de Tabelas

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1: Dez medicamentos mais vendidos no mundo em 2018 e a projeção de vendas para 2024. ....   | 10 |
| Tabela 2: Requerimentos para registro de medicamentos biológicos. ....   | 18 |
| Tabela 3: PDPs de medicamentos biotecnológicos ....  | 21 |
| Tabela 4: Comparativo entre modos de operação utilizados na produção de mAbs ....  | 28 |
| Tabela 5: Exemplos de equipamentos de retenção celular e seus princípios de separação. ....  | 28 |
| Tabela 6: Histórico da ocorrência dos cânceres em homens e mulheres. ....  | 34 |
| Tabela 7: Histórico da ocorrência de Melanoma em homens e mulheres. ....   | 35 |
| Tabela 8: Projeção de Melanoma na população brasileira ....  | 36 |
| Tabela 9: Produção necessária para atender a demanda dos casos de Melanoma. ....   | 37 |
| Tabela 10: Histórico da ocorrência de CP em homens e mulheres. ....  | 37 |
| Tabela 11: Projeção de CP na população brasileira. ....  | 38 |
| Tabela 12: Produção necessária para atender a demanda dos casos de CPCNP. ....   | 39 |
| Tabela 13: Histórico da ocorrência dos cânceres e CCP em homens e mulheres. ....   | 40 |
| Tabela 14: Projeção de CCP na população brasileira ....  | 40 |
| Tabela 15: Produção necessária para atender a demanda dos casos de HNSCC. ....   | 42 |
| Tabela 16: Histórico da ocorrência de CB em homens e mulheres. ....  | 42 |
| Tabela 17: Projeção de CB na população brasileira ....   | 43 |
| Tabela 18: Produção necessária para atender a demanda dos casos de UC. ....  | 44 |
| Tabela 19: Massa total a ser produzida anualmente de Pembrolizumab ....  | 45 |
| Tabela 20: Rendimentos de cada etapa do processo produtivo e o rendimento global   | 50 |
| Tabela 21: Parâmetros utilizados no cálculo do dimensionamento do biorreator principal. ....   | 51 |
| Tabela 22: Caracterização da Configuração do Hidrociclone HC2015 numa perfusão de 20 dias com $\Delta p$ operacional de 1,0-1,5 bar até o dia 8 e, em seguida, aumentado para 2,0-2,5 bar .... | 53 |
| Tabela 23: Volumes dos recipientes utilizados na propagação do inóculo e concentrações de células inoculadas e no final de cada etapa de propagação. ....                                      | 55 |

|  |    |
|--|----|
| Tabela 24: Soluções tampão e volumes da coluna necessários a cada etapa do processo de cromatografia de afinidade. ....            | 58 |
| Tabela 25: Tempo de duração de cada etapa do processo de cromatografia de afinidade. ....  | 58 |
| Tabela 26: Soluções tampão e volumes da coluna necessários a cada etapa do processo de cromatografia de troca aniônica.....        | 61 |
| Tabela 27: Tempo de duração de cada etapa do processo de cromatografia de aniônica. ....   | 61 |
| Tabela 28: Soluções tampão e volumes da coluna necessários a cada etapa do processo de cromatografia de troca catiônica.....       | 63 |
| Tabela 29: Tempo de duração de cada etapa do processo de cromatografia de catiônica.....   | 63 |
| Tabela 30: Dados de UF/DF. ....  | 65 |
| Tabela 31: Concentração e quantidade necessária dos excipientes para formulação. ..  | 66 |
| Tabela 32: Planejamento das etapas de desenvolvimento do Pembrolizumab, construção da planta produtiva e vida útil da planta. .... | 69 |
| Tabela 33: Custos das etapas de desenvolvimento, testes pré-clínicos e clínicos e assuntos regulatórios. ....                      | 70 |
| Tabela 34: Estimativa de Investimento para implantação da planta produtiva .....   | 71 |
| Tabela 35: Equipamentos principais do processo e custos de aquisição .....   | 73 |
| Tabela 36: Correlação entre as três normas técnicas de classificação de áreas.....   | 74 |
| Tabela 37: Divisão das áreas limpas da planta por atividade e suas classificações.....   | 74 |
| Tabela 38: Custo total de construção de áreas limpas .....   | 75 |
| Tabela 39: Investimento Total do Projeto .....   | 75 |
| Tabela 40: Estimativa do custo total de produção .....   | 76 |
| Tabela 41: Custo anual das matérias-primas e acessórios utilizados na produção .....   | 77 |
| Tabela 42: Custo total de produção sem considerar o processamento final .....  | 79 |
| Tabela 43: Custo total de produção considerando o processamento final.....   | 80 |
| Tabela 44: Demonstração de resultados do exercício do projeto .....  | 82 |
| Tabela 45: Fluxo de caixa durante o desenvolvimento do processo e do produto e a construção da planta .....                        | 84 |
| Tabela 46: Fluxo de caixa durante a operação da planta produtiva.....  | 85 |

## 1. INTRODUÇÃO

O câncer é o principal problema de saúde pública no mundo. A incidência e a mortalidade pelo câncer vêm aumentando globalmente em decorrência principalmente do envelhecimento populacional, como também pela mudança na distribuição e na prevalência dos fatores de risco de câncer (BRAY *et al.*, 2018).

Juntamente com esse crescimento, observou-se um aumento nos índices hospitalares relacionados às internações e aos gastos de recursos públicos com tratamentos e diagnósticos. Com o advento de novas tecnologias, o tratamento do câncer tem evoluído drasticamente a fim de se tornar mais seletivo e direcionado às células tumorais, gerando diversas abordagens para diferentes tipos de câncer, inclusive protocolos que preveem combinações com tratamentos clássicos, como a quimioterapia (AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL, 2016). Nesse sentido, grande esforço tem sido dedicado no desenvolvimento de intervenções que busquem melhoria na qualidade e expectativa de vida dos pacientes, sendo os biofármacos, os principais medicamentos indicados para o tratamento de uma variedade de doenças complexas e de grande incidência, como o câncer.

Os biofármacos ou medicamentos biológicos são moléculas complexas de alto peso molecular obtidas a partir de fluidos biológicos, tecidos de origem animal ou procedimentos biotecnológicos por meio de manipulação ou inserção de outro material genético (tecnologia do DNA recombinante) ou alteração dos genes que ocorre devido à irradiação, a produtos químicos ou seleção forçada (ANVISA, 2020a).

Nos últimos anos, entre os biofármacos mais explorados no mundo estão os anticorpos monoclonais<sup>1</sup>, aos quais representam o maior número de estudos clínicos e aprovações de uso para desenvolvimento de biofármacos (WALSH, 2018). Na listagem dos 10 medicamentos mais vendidos mundialmente em 2018, somando vendas de mais de US\$ 39 bilhões, seis foram de base biológica (Humira®, Keytruda®, Opdivo®, Dupixent®, Eylea® e Stelara®), dos quais cinco são anticorpos monoclonais (adalimumab, pembrolizumab, nivolumab, dupilumab e ustekinumab) (EVALUATE LTD, 2018).

---

<sup>1</sup> Imunoglobulinas derivadas de um mesmo clone de linfócito B, cuja clonagem e propagação efetuam-se em linhas de células contínuas.

O pembrolizumab é um anticorpo monoclonal humanizado seletivo (imunoglobulina IgG4) desenhado para bloquear a interação entre o receptor alvo PD-1 e os seus ligantes, PD-L1 e PD-L2 (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2020). O advento da terapia de bloqueio da via PD-1 revolucionou a terapia do câncer, proporcionando aos seus descobridores ganharem o Prêmio Nobel de Medicina (THE NOBEL ASSEMBLY AT KAROLINSKA INSTITUTET, 2018).

Atualmente, com a expiração de diversas patentes de biofármacos, cada vez mais empresas do setor biofarmacêutico estão investindo no desenvolvimento e comercialização dos medicamentos denominados biossimilares<sup>2</sup> (AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL, 2016).

No Brasil, o Pembrolizumab possui registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para oito indicações terapêuticas: melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas, carcinoma de cabeça e pescoço de células escamosas em adultos, carcinoma urotelial, câncer gástrico, câncer esofágico em adultos, Linfoma de Hodgkin clássico e carcinoma de células renais (ANVISA, 2020b). Entretanto, somente em 2020 foi plenamente incorporado o uso de Pembrolizumab nos procedimentos oferecidos pelo SUS para tratamento de uma das indicações terapêuticas: melanoma em estágio avançado não-cirúrgico e metastático. (CONITEC, 2020a).

Dos vinte medicamentos mais vendidos no país, mais de 56% são anticorpos monoclonais (GOMES, 2014). O mercado brasileiro de biofarmacos é dominado por produtos biológicos importados. De acordo com dados do Ministério da Saúde, cerca de 60% dos recursos destinados à aquisição de medicamentos essenciais do Sistema Único de Saúde (SUS) é comprometida com a compra desse tipo de biofármaco, tornando as importações de biológicos um gasto muito relevante para a saúde pública. (SEDINI, 2017). Desta forma, a fim de reduzir custos de importação com tais fármacos e estabelecer tecnologias de produção nacional, o Ministério da Saúde decidiu introduzir uma série de biofármacos na Lista de Produtos Estratégicos para o SUS<sup>3</sup>, incluindo o Pembrolizumab. A estratégia adotada pelo governo federal com essas inclusões foi de incentivar a produção nacional através das

---

<sup>2</sup> Biossimilares são produtos biológicos que apresentam atividade similar com um medicamento já aprovado pela agência regulatória, conhecido como produto de referência.

<sup>3</sup> [...] produtos necessários ao SUS para ações de promoção, prevenção e recuperação da saúde, com aquisições centralizadas ou passíveis de centralização pelo Ministério da Saúde e cuja produção nacional e de seus insumos farmacêuticos ativos ou componentes tecnológicos críticos são relevantes para o País (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Parcerias para o Desenvolvimento Produtivo – PDP, as quais envolvem laboratórios públicos e privados com foco na produção de biossimilares.

No modelo de PDP, é incentivada a transferência de tecnologia de companhias privadas para públicas ao longo de cinco anos, através de contratos que incluem compras governamentais para o SUS, garantindo a internalização da produção e a transferência de tecnologia para um produtor nacional (SALERMO, MATSUMOTO e FERRAZ, 2018).

Diante deste cenário, em que o uso de anticorpos monoclonais se apresenta como uma terapia eficaz, os altos custos dos tratamentos apontam uma falta de competitividade de mercado, decorrente da proteção por patentes, alto custo de produção e a falta de produtores nacionais, possibilitando uma concentração produtiva e tornando o acesso a essas terapias limitado pelos altos preços praticados (ESPARTEIRO, 2016). Um curso de ação óbvio é a redução dos custos dos biológicos, que expiraram ou estão em fase final de proteção de suas patentes, por meio do desenvolvimento de biossimilares. A substituição de biológicos de referência<sup>4</sup> por biossimilares pode aumentar o acesso dos pacientes bem como reduzir os gastos públicos com saúde.

Nesse âmbito, o objetivo deste trabalho é avaliar a viabilidade econômica de um projeto para construção de uma planta destinada à produção do biossimilar Pembrolizumab no Brasil, de forma a atender a demanda do SUS.

Para atender o objetivo principal, alguns objetivos específicos devem ser alcançados, tais como:

- Estimar a demanda nacional futura do Pembrolizumab;
- Estudar a tecnologia do processo de produção deste biofármaco;
- Realizar o dimensionamento da planta para produção;
- Estimar os investimentos necessários e os custos de produção;
- Calcular fluxo de caixa e demonstrativo de resultados do exercício do projeto;
- Calcular alguns indicadores de viabilidade do projeto.

A estrutura do trabalho está dividida em 6 capítulos, além da introdução. No capítulo 2 será feita uma revisão bibliográfica, apresentando conceitos importantes como anticorpos

---

<sup>4</sup> Produto biológico inovador, registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária e comercializado no País cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente (ANVISA, 2020a).

monoclonais, biossimilares, sistemas de produção de biofármacos, além do produto biológico em si. No capítulo 3, será realizado um estudo da demanda para a produção do Pembrolizumab no Brasil. A partir da demanda projetada, será realizada a síntese do processo e o dimensionamento dos equipamentos no capítulo 4. No capítulo 5, serão realizadas as análises de viabilidade econômica e de sensibilidade. Por fim, no capítulo 6 serão apresentadas as conclusões do trabalho.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

O objetivo deste capítulo é apresentar o referencial teórico que servirá de fundamentação para o projeto de produção do biossimilar Pembrolizumab no Brasil. Nas duas primeiras seções, são apresentados aspectos relevantes dos anticorpos monoclonais. As duas seções seguintes abordam as principais características do Pembrolizumab, incluindo seu desenvolvimento, funcionamento e indicações terapêuticas. Na sequência, é apresentado um panorama da produção de biossimilares e das parcerias criadas para desenvolvimento destes no Brasil. Por fim, são abordadas metodologias utilizadas na produção de Pembrolizumab.

### **2.1 Anticorpos**

Os anticorpos são componentes importantes do sistema imunológico, presentes no soro, fluidos teciduais e secretados por linfócitos B diferenciados após contato com quaisquer substâncias consideradas estranhas contra as quais foram projetados e produzidos, denominadas de antígenos (TEVA, FERNANDEZ e SILVA, 2013).

Os anticorpos são conceituados como glicoproteínas globulares pertencentes à família das imunoglobulinas. Sua estrutura molecular é composta por duas regiões funcionais principais, a variável e a constante. A região variável é responsável pelo reconhecimento do agente patogênico que induziu a resposta imune, por meio de uma ligação específica ao antígeno correspondente. A região constante, por sua vez, é responsável pelo recrutamento de outras células e moléculas que vão destruir o patógeno ao qual o anticorpo se ligou. Esta função é conhecida como função efetora (ROQUE, LOWE e TAIPA, 2004).

Em sua estrutura, os anticorpos são compostos também por duas subunidades de cadeias leves e por duas de cadeias pesadas. Ligações dissulfídricas unem ambas as cadeias pesadas, assim como cada cadeia pesada a uma cadeia leve. Os isotipos das cadeias leves podem ser do tipo  $\kappa$  ou  $\lambda$ , que se diferenciam por suas regiões constantes. Uma molécula de anticorpo pode ter duas cadeias leve tipo  $\kappa$  ou duas tipo  $\lambda$ , mas não uma de cada tipo (ABBAS, 2008). As regiões constantes das cadeias pesadas assumem um número limitado de formas, o que confere a classificação das imunoglobulinas nas classes IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. Em humanos, cerca de 80% das imunoglobulinas séricas são IgG que se apresentam nas subclasses IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. A classe das imunoglobulinas IgG é a mais frequentemente utilizada para imunoterapia de câncer (MURPHY, TRAVERS e WALPORT, 2010).



A representação esquemática típica que uma imunoglobulina IgG assume é a forma da letra Y, conforme Figura 1, sendo os “braços” da molécula correspondentes a região denominada “Fab” (*fragment antigen binding*) formado por um domínio constante e um domínio variável de cada cadeia e a “haste” da molécula, região denominada “Fc” (*fragment cristallizable*), responsável pela citotoxicidade da molécula. O domínio variável de Fab apresenta três regiões hipervariáveis determinantes de complementaridade (CDRs) que formam o local de ligação do anticorpo ao antígeno, conferindo a especificidade antigênica (WEINER, MURRAY e SHUPTRINE, 2012).

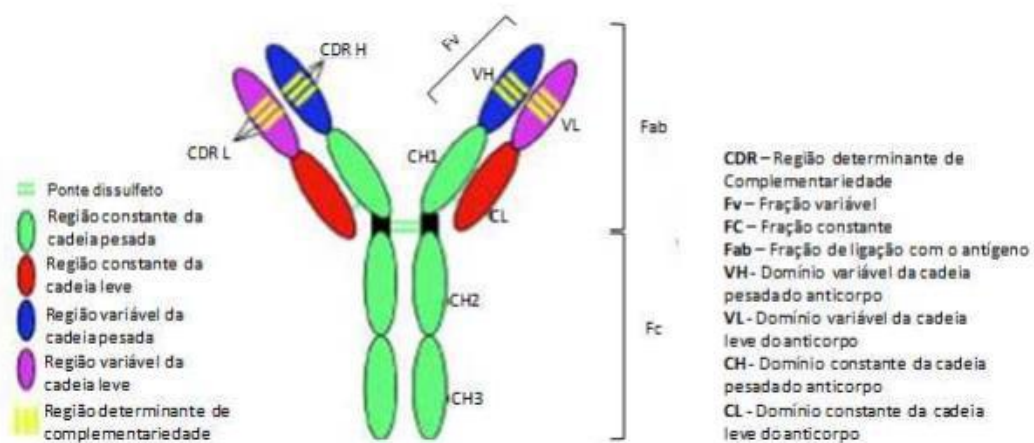


Figura 1: Representação de um anticorpo típico IgG. Adaptado de CARVALHO, 2013

## 2.2 Anticorpos Monoclonais

Os anticorpos oriundos da resposta imune dos animais a um único antígeno são heterogêneos. Eles são formados a partir de vários clones de linfócitos B que se diferenciam em plasmócitos secretores de anticorpos que se ligam a diferentes regiões (epítomos) de um antígeno. Esses anticorpos são denominados policlonais. Os anticorpos monoclonais (mAbs – *monoclonal antibodies*) são produzidos a partir de um único clone de linfócito B, resultando em um mesmo grupo de anticorpos, com a mesma estrutura, propriedades físico-químicas e biológicas, especificidade e ação contra um único antígeno (THIE *et al.*, 2008).

Esse conceito foi primeiramente desenvolvido pelos pesquisadores Georges Köhler e Cesar Milstein, em 1975, a partir da tecnologia de hibridomas, resultante da fusão de células tumorais, denominadas de mielomas, com linfócitos B. Os linfócitos B utilizados foram obtidos de camundongos que foram previamente humanizados com o antígeno específico,

sendo produzidos, dessa forma, anticorpos monoclonais chamados murinos (Figura 2). A contribuição de Köhler e Milstein para o desenvolvimento de anticorpos monoclonais proporcionou aos pesquisadores ganharem o Prêmio Nobel de Medicina em 1984 (FREYSD'OTTIR, 2000).

A produção de anticorpos monoclonais é uma técnica laboriosa, uma vez que os hibridomas assim gerados se proliferam indefinidamente secretando anticorpos específicos contra o antígeno utilizado e são selecionados aplicando-se diluições seriadas em placas de 96 poços, que teoricamente resultarão em uma única célula por poço. As colônias desenvolvidas são testadas para verificação da secreção do anticorpo de interesse e, em caso positivo, são expandidas para produção do anticorpo em elevadas quantidades (MURPHY, TRAVERS e WALPORT, 2010).

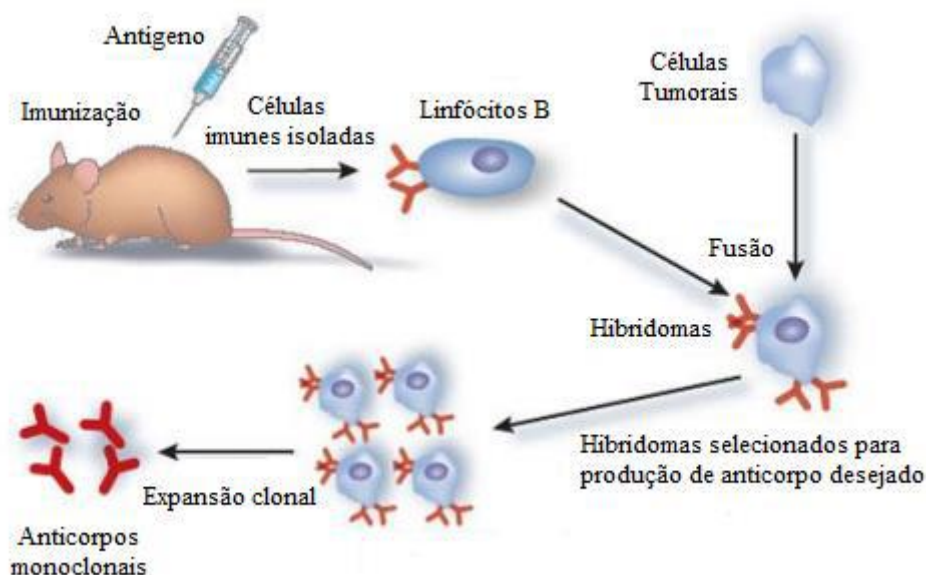


Figura 2: Esquema simplificado da produção de anticorpos monoclonais através da tecnologia de hibridoma. Adaptado de MICHNICK e SIDHU, 2008.

O uso dos anticorpos monoclonais murinos com objetivo terapêutico em humanos é limitado devido à sua alta imunogenicidade. Além disso, muitas vezes são ineficientes por não possibilitar a ativação necessária das funções biológicas em humanos. Essas limitações foram grandes empecilhos para o desenvolvimento de medicamentos utilizando anticorpos monoclonais. No sentido de ultrapassar estes problemas, foram desenvolvidas diversas abordagens através da biologia molecular que possibilitam aumentar a semelhança destes anticorpos com os de origem humana. Dessa forma, os anticorpos podem ser tipificados como murinos, quiméricos, humanizados e humanos.

A tipificação se baseia na presença de regiões oriundas de anticorpos de camundongos nos anticorpos monoclonais produzidos, originando os quatro tipos diferentes, conforme apresentado na Figura 3. O anticorpo denominado murino possui sua sequência totalmente originada do anticorpo do camundongo (com nomenclatura terminando em “o”, por exemplo, muromomab). O anticorpo quimérico possui sequência totalmente humana, exceto a região variável do anticorpo que é murina (terminando em “xi”, por exemplo, rituximab), o anticorpo humanizado possui apenas a região denominada CDR originada de anticorpos de camundongo, preservando 90% das propriedades do anticorpo humano (terminando em “zu”, por exemplo, pembrolizumab) e o anticorpo humano possui sua sequência totalmente humana (terminando em “u”, por exemplo, adalimumab).

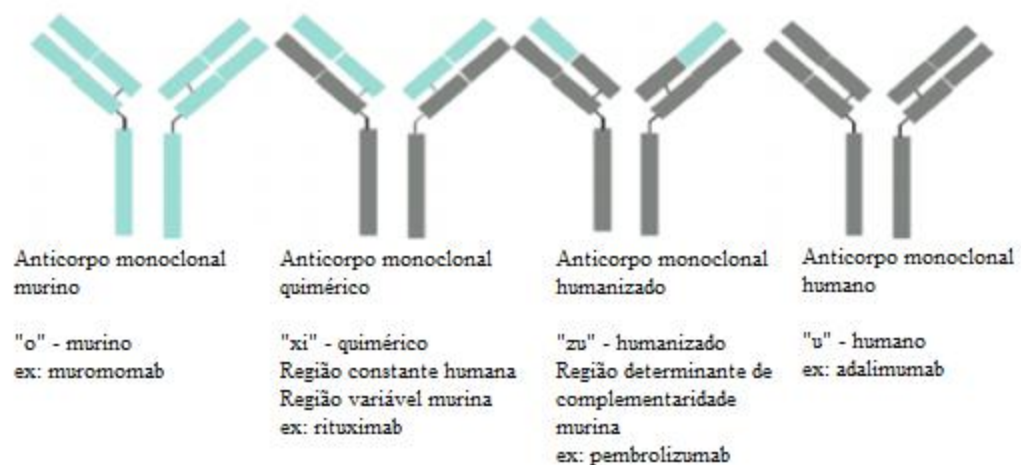


Figura 3: Esquema do desenvolvimento dos anticorpos monoclonais. Adaptado de CASANOVA-ESTRUCH, 2013.

Portanto, a partir dos anticorpos monoclonais quiméricos e humanizados, cientistas tentaram criar anticorpos monoclonais inteiramente humanos, para minimizar qualquer reação adversa no organismo humano. Foram desenvolvidas duas tecnologias de sucesso para sua produção: utilização de fagos (*phage display*) e camundongos transgênicos (LONBERG e HUSZAR, 1995).

Atualmente, anticorpos humanos e humanizados compreendem a maioria dos anticorpos monoclonais aprovados aplicados como opção de tratamento para pelo menos 50 doenças, incluindo câncer, desordens autoimunes, problemas cardiovasculares, anemia e doenças infecciosas.

## 2.3 Pembrolizumab

As pesquisas para o desenvolvimento do Pembrolizumab foram desenvolvidas na Organon, seção de saúde da Akzo Nobel, a qual foi adquirida pela Schering-Plough em novembro de 2007. A Schering-Plough foi então adquirida pela Merck & Co em novembro de 2009 (COLLIN, 2017).

O Pembrolizumab é atualmente fabricado pela Merck & Co e é conhecido como o medicamento de imunoterapia<sup>5</sup> Keytruda®. Os direitos de patente deste fármaco expirarão em 2028 nos Estados Unidos, Europa e Brasil (SILVA, 2019).

Atualmente há um outro medicamento aprovado para PD-1, o nivolumabe (Opdivo® da Bristol-Myers Squibb), cuja patente expirará em 2026. Em 2014, a Merck foi processada pela Bristol-Myers Squibb (BMS) com a alegação de que comercialização de Pembrolizumab infringia a patente da BMS. O conflito de violação de patentes teve fim somente em 2017, ano em que Merck e BMS anunciaram que as empresas assinaram um acordo global de licença de patente. No acordo, a Merck deveria fornecer um pagamento adiantado de US\$ 625 milhões à BMS e seria obrigada a pagar royalties decrescentes (6,5–2,5%) sobre as vendas globais de Pembrolizumab (COLLIN, 2017).

O Pembrolizumab foi aprovado para uso pela primeira vez pela *Food and Drug Administration*<sup>6</sup> (FDA) em 2014 para o tratamento do melanoma metastático em doentes previamente tratados com ipilimumab e em melanomas positivos para a mutação no gene BRAF, previamente tratados com um inibidor do BRAF. Posteriormente, em 2015 foi aprovado pela *European Medicines Agency* (EMA)<sup>7</sup> para o tratamento do melanoma metastático e passou a ter indicação para utilização terapêutica de primeira linha para esta doença pela FDA (FIALHO, 2017). No Brasil, sua primeira aprovação pela Anvisa foi em 2016 para tratamento do melanoma avançado. Ao todo, aprovado pela Anvisa, somam-se 8 aprovações de indicações terapêuticas, sendo a última, em outubro de 2020, para tratamento de pacientes com câncer esofágico localmente avançado e recorrente ou metastático.

---

<sup>5</sup> Intervenções que buscam estímulo de nova resposta imune ou potencialização de respostas imunológicas existentes contra células tumorais. São baseadas na manipulação da resposta imune, podendo ser resultado da interação antígeno-anticorpo ou dos mecanismos envolvidos na imunidade mediada por células.

<sup>6</sup> FDA é a agência reguladora responsável pela avaliação científica, controle e monitoramento da segurança de alimentos e medicamentos nos Estados Unidos.

<sup>7</sup> EMA é a agência reguladora responsável pela avaliação científica, controle e monitoramento da segurança dos medicamentos produzidos pelas empresas farmacêuticas na União Europeia.

Até 2019, o Pembrolizumab havia sido aprovado para 22 indicações ao todo pela FDA (BIOSPACE, 2019). Devido à crescente demanda global e continuidade de aprovações regulatórias, o Pembrolizumab (nome comercial Keytruda) deverá ser uma das drogas mais vendidas do mundo, conforme Tabela 1.

Tabela 1: Dez medicamentos mais vendidos no mundo em 2018 e a projeção de vendas para 2024.

| Rank | Medicamento | Fabricante                    | Classe de medicamento  | Vendas em 2018  | Vendas em 2024  |
|------|-------------|-------------------------------|------------------------|-----------------|-----------------|
| 1    | Humira      | AbbVie                        | Anti-TNF MAb           | \$18.92 bilhões | \$15.23 bilhões |
| 2    | Keytruda    | Merck                         | Anti-PD-1              | \$3.82 bilhões  | \$12.69 bilhões |
| 3    | Revlimid    | Celgene                       | Imunomodulador         | \$8.19 bilhões  | \$11.93 bilhões |
| 4    | Optivo      | Bristol-Myers Squibb          | Anti-PD-1              | \$5.73 bilhões  | \$11.25 bilhões |
| 5    | Eliquis     | Bristol-Myers Squibb e Pfizer | Inibidor de Fator xA   | \$4.87 bilhões  | \$10.54 bilhões |
| 6    | Imbruvica   | AbbVie e Johnson& Johnson     | Inibidor de BTK        | \$3.2 bilhões   | \$9.56 bilhões  |
| 7    | Ibrance     | Pfizer                        | Inibidor de CDK 4/6    | \$3.13 bilhões  | \$8.28 bilhões  |
| 8    | Dupixent    | Sanofi                        | Anti-IL-4 e IL-13 MAb  | \$247 milhões   | \$8.06 bilhões  |
| 9    | Eylea       | Regeneron e Bayer             | Inibidor de VEGF       | \$6.28 bilhões  | \$6.82 bilhões  |
| 10   | Stelara     | Johnson& Johnson              | Anti-IL-12 e IL-23 MAb | \$4.01 bilhões  | \$6.47 bilhões  |

Fonte: adaptado de EVALUATE LTD, 2018

O Pembrolizumab é um anticorpo monoclonal humanizado pertencente a classe das imunoglobulinas IgG4 que bloqueia uma via biológica chamada morte celular programada-1 (PD-1), via que as células tumorais ativam para suprimir o sistema imunológico. Possui peso molecular aproximado de 149 kDa. Sua forma de apresentação é de uma solução injetável, contendo 100mg de Pembrolizumab, em frasco-ampola de vidro com 4 mL de solução (25 mg/mL) (ANVISA, 2020b).

Foi construído através da inserção de sequências de CDR da região variável de um anticorpo anti-PD-1 de murino numa estrutura de IgG4- kappa humana contendo um estabilizador para a mutação Fc S228P, como observado na Figura 4.



Figura 4: Desenho do anticorpo monoclonal Pembrolizumab. Adaptado de KANG et al., 2017

A proteína 1 de morte celular programada (PD-1) é expressa nas superfícies de uma variedade de células imunológicas, incluindo monócitos, células T e células B. Sendo assim, a PD-1 é uma importante molécula de *checkpoint* da resposta imune, altamente expressa em células T. Seus principais ligantes incluem PD-L1 e PD-L2, aos quais são altamente expressos em uma variedade de células tumorais humanas. Quando PD-L1 ou PD-L2 se ligam a PD-1 expresso na superfície de uma célula T, esta recebe um sinal inibitório, fazendo com que suprima sua proliferação e a produção de citocinas e, assim, inibindo a resposta imune associada. Ao bloquear o receptor PD-1, o Pembrolizumab impede o câncer de inibir a atividade dessas células imunitárias, aumentando assim a capacidade do sistema imunitário de eliminar as células cancerosas (WANG *et al.*, 2019).

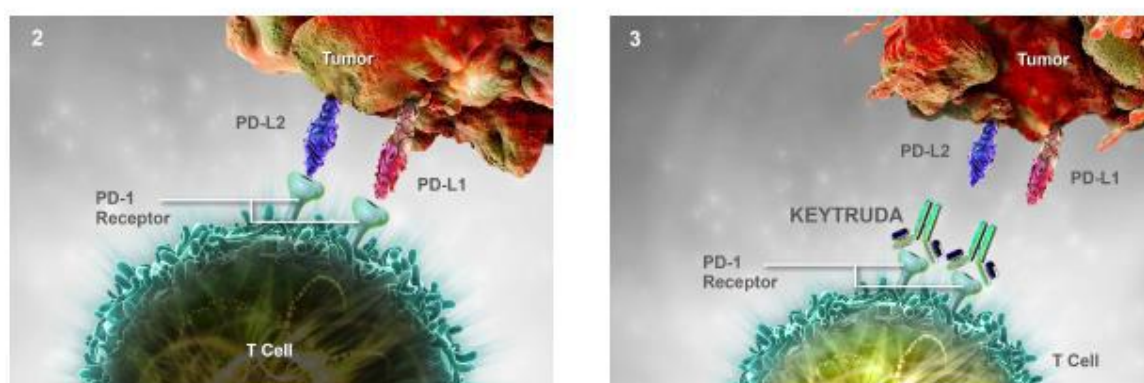


Figura 5: Mecanismo de ação do Pembrolizumab. Adaptado de MERCK & CO, 2020

O Pembrolizumab é frequentemente administrado em casos de metástase, por impossibilidade de remoção cirúrgica ou quando outros tratamentos de câncer não funcionam ou pararam de funcionar. A dose recomendada em monoterapia é de 200 mg a cada 3 semanas ou 400 mg a cada 6 semanas, administrada por perfusão intravenosa durante um período de 30 minutos. (ANVISA, 2020b). Quanto à taxa de sucesso do medicamento, estudos realizados

pela Merck relatam que o Pembrolizumab demonstrou uma taxa de sobrevida global (SG) em cinco anos de 23,2% em pacientes sem tratamento prévio e 15,5% em pacientes previamente tratados (MERCK & CO, 2020).

## **2.4 Indicações terapêuticas aprovadas pela Anvisa**

O uso de Pembrolizumab no Brasil é aprovado pela Anvisa para as seguintes indicações terapêuticas: melanoma em estágio avançado, câncer de pulmão de células não pequenas, carcinoma de cabeça e pescoço de células escamosas em adultos, carcinoma urotelial, câncer gástrico, câncer esofágico, Linfoma de Hodgkin clássico e carcinoma de células renais.

### Melanoma:

O câncer de pele é caracterizado pelo crescimento descontrolado de células anormais da pele causado por mutações ou defeitos genéticos no DNA. O melanoma é um tipo de câncer de pele, derivado de melanócitos, que pode aparecer em qualquer parte do corpo, seja na pele ou mucosas, na forma de manchas, pintas ou sinais, mas que pode acometer outros locais do corpo como vísceras. Sua forma mais grave ocorre quando tumores do melanoma originalmente localizados na epiderme invadem camadas mais profundas da pele e ganham acesso a outras partes do organismo, como gânglios linfáticos, cérebro, fígado, pulmões e ossos. Neste caso, o melanoma é conhecido como melanoma avançado ou melanoma metastático e pode levar à morte. (NOVARTIS, 2017).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a cada ano são diagnosticados 132 mil novos casos de melanoma no mundo. No Brasil, a estimativa do Instituto Nacional de Câncer (Inca) aponta que, em 2020, foram registrados 8,5 mil novos casos, 3% do total de diagnósticos de câncer de pele no país. Esse é considerado o tipo mais grave e com maiores chances de provocar metástases, quadros em que a doença se dissemina para outros órgãos (CONITEC, 2020a).

O Pembrolizumab é indicado para as seguintes condições (ANVISA, 2020b):

- monoterapia para o tratamento de pacientes com melanoma metastático ou irresssecável;

- monoterapia para o tratamento adjuvante em adultos com melanoma com envolvimento de linfonodos, que tenham sido submetidos a ressecção cirúrgica completa.

#### Câncer de pulmão de células não pequenas:

O câncer do pulmão de células não-pequenas é um tipo de câncer nos pulmões ou vias aéreas. A maioria dos cânceres do pulmão são do tipo de células não-pequenas. O câncer de pulmão afeta principalmente as pessoas que fumam ou estão expostas à poluição do ar.

O câncer de pulmão de células não pequenas se subdivide em três categorias: o adenocarcinoma, que tem origem nas células dos alvéolos, que produzem muco, e é mais comum em não fumantes; o câncer de células escamosas, que começa nas células achatadas dos pulmões e é causado pelo fumo; e o câncer de células grandes, que começa em células grandes do pulmão (A.C. CAMARGO, 2019).

Os sintomas típicos de câncer do pulmão de células não-pequenas costumam ser tosse ou tossir sangue, dores no peito, chiado e dificuldades respiratórias. Outros sintomas gerais são perda de peso, perda de apetite e fadiga. Os sintomas tendem a aparecer gradualmente.

O uso de Pembrolizumab é indicado (ANVISA, 2020b):

- em combinação com quimioterapia a base de platina e pemetrexede para o tratamento de primeira linha em pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas (CPCNP) não escamoso, metastático e que não possuam mutação EGFR sensibilizante ou translocação;
- em combinação com carboplatina e paclitaxel ou paclitaxel (ligado à albumina) para tratamento de primeira linha em pacientes com CPCNP escamoso e metastático;
- em monoterapia, para o tratamento de pacientes com CPCNP não tratado anteriormente, cujos tumores expressam PD-L1 com pontuação de proporção de tumor (PPT)  $\geq 1\%$ , conforme determinado por exame validado e que não possuam mutação EGFR sensibilizante ou translocação ALK, e que estejam: o em estágio III, quando os pacientes não são candidatos a ressecção cirúrgica ou quimiorradiação definitiva, ou o metastático;
- em monoterapia, para o tratamento de pacientes com CPCNP em estágio avançado, cujos tumores expressam PD-L1, com PPT  $\geq 1\%$ , conforme



determinado por exame validado, e que tenham recebido quimioterapia à base de platina.

### Carcinoma de cabeça e pescoço

Câncer de cabeça e pescoço é o nome que se dá ao conjunto de tumores que se manifestam na boca, na faringe e na laringe, entre outras localizações da cabeça e do pescoço. É considerado um dos cânceres mais agressivos e invasivos. Histologicamente, cerca de 90% de todos os casos de câncer de cabeça e pescoço caracterizam-se como carcinomas de células escamosas de cabeça e pescoço (HNSCC) (SCUTTI *et al.*, 2016).

Os tumores de cabeça e pescoço estão relacionados ao tabagismo, ao consumo de bebidas alcoólicas e a infecções pelo papilomavírus humano (HPV).

O Pembrolizumab é indicado, em monoterapia, para tratamento de primeira linha em pacientes com carcinoma de cabeça e pescoço de células escamosas (HNSCC) metastático, irresssecável ou recorrente e que possuam expressão de PD-L1 (pontuação positiva combinada (PPC) > 1) e, em combinação, com quimioterapia a base de platina e 5-fluorouracil (ANVISA, 2020b).

### Carcinoma urotelial

O carcinoma urotelial é um tipo de neoplasia originada na camada de revestimento interna do trato urinário, presente na pelve renal, ureter, bexiga e uretra. É um tumor raro, correspondendo a menos de 10% das neoplasias do trato genito-urinário. O principal fator de risco para desenvolvimento de carcinoma urotelial é o tabagismo (RIBEIRO *et al.*).

O Pembrolizumab é indicado para o tratamento de pacientes com carcinoma urotelial localmente avançado ou metastático que tenham apresentado progressão da doença durante ou após a quimioterapia contendo platina ou dentro de 12 meses de tratamento neoadjuvante ou adjuvante com quimioterapia à base de platina. É indicado também para o tratamento de pacientes com carcinoma urotelial localmente avançado ou metastático não elegíveis à quimioterapia à base de cisplatina e cujos tumores expressam PD-L1 com pontuação positiva combinada (PPC)  $\geq 10$ , conforme determinado por exame validado (ANVISA, 2020b).

### Câncer gástrico

O câncer de estômago também é chamado de câncer gástrico. O tipo adenocarcinoma é responsável por cerca de 95% dos casos de tumor do estômago. Outros tipos de tumores, como linfomas e sarcomas, também podem ocorrer no estômago (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2020a).

O Pembrolizumab é indicado para o tratamento de pacientes com adenocarcinoma gástrico ou da junção gastroesofágica recidivado recorrente, localmente avançado ou metastático com expressão de PD-L1 (pontuação positiva combinada (PPC) > 1) conforme determinado por exame validado, com progressão da doença em ou após duas ou mais linhas de terapias anteriores incluindo quimioterapia à base de fluoropirimidina e platina e, se apropriado, terapias-alvo HER2/neu (ANVISA, 2020b).

### Câncer esofágico

O câncer de esôfago representa 2% de todos os tumores malignos. Entretanto, apesar de raro, está entre os tumores de crescimento mais rápido. O câncer do esôfago se origina nas células que revestem a parede do esôfago.

O uso de tabaco e de álcool, infecções por papilomavírus humano e certos distúrbios esofágicos são os principais fatores de risco para certos tipos de câncer esofágico. Os sintomas característicos incluem dificuldade para engolir, perda de peso e posteriormente, dor (MERCK & CO, 2019a).

O Pembrolizumab é indicado para o tratamento de pacientes com câncer esofágico localmente avançado e recorrente ou metastático cujos tumores expressam PD-L1 com pontuação positiva combinada (PPC)  $\geq 10$ , conforme determinado por exame validado, e que tenham recebido uma ou mais linhas anteriores de terapia sistêmica (ANVISA, 2020b).

### Linfoma de Hodgkin clássico

Linfoma de Hodgkin é um tipo de câncer que se origina no sistema linfático. Possui característica de se espalhar de forma ordenada, de um grupo de linfonodos para outro grupo, por meio dos vasos linfáticos. A doença surge quando um linfócito, mais frequentemente um do tipo B, se transforma em uma célula maligna, capaz de multiplicar-se descontroladamente e disseminar-se. Com o passar do tempo, essas células malignas podem se disseminar para tecidos próximos, e, se não tratadas, podem atingir outras partes do corpo. A doença origina-

se com maior frequência na região do pescoço e na região do tórax denominada mediastino (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2020b).

O Pembrolizumab é indicado para o tratamento de pacientes com Linfoma de Hodgkin clássico (LHc) refratário ou recidivado após 3 ou mais linhas de terapias anteriores (ANVISA, 2020b).

### Carcinoma de células renais

O carcinoma de células renais (CCR) é uma neoplasia que surge no parênquima renal/córtex. Os sintomas podem incluir hematúria, dor lombar, massa palpável e febre de origem indeterminada (MERCK & CO, 2019b).

O Pembrolizumab é indicado em combinação com axitinibe para o tratamento de primeira linha em pacientes com carcinoma de células renais avançado ou metastático (ANVISA, 2020b).

## **2.5 Biossimilares e perspectiva no cenário brasileiro**

No Brasil, a resolução vigente para o registro de medicamentos biológicos junto à ANVISA é a RDC nº 55 de 16 de dezembro de 2010. O objetivo principal da RDC nº 55 é regulamentar o registro de produtos biológicos no Brasil, garantindo a eficácia e segurança destes medicamentos. O registro é indispensável para a produção e comércio de qualquer medicamento no Brasil, de acordo com a Lei 6.360/76. O registro tem validade de cinco anos, e pode ser revalidado por períodos iguais quando faltarem seis meses para expiração do mesmo (ANVISA, 2010). Dentro da RDC nº 55 de 2010 são considerados:

- Produtos biológicos novos, que são produzidos a partir de molécula que tenha atividade biológica conhecida, porém sem registro no Brasil;
- Produtos biológicos (não novos), que são produzidos a partir de molécula cuja atividade biológica é conhecida, e já registrada no Brasil.

No Brasil, o termo biossimilar não é utilizado, porém bastante aplicado internacionalmente. Os biossimilares possuem a mesma sequência de aminoácidos dos seus produtos biológicos de referência, porém considera-se que são produzidos a partir de clones e processos de manufatura diferentes. No caso dos anticorpos monoclonais, os biossimilares podem incluir diferenças possíveis no perfil de glicosilação e outras pequenas variações como

variantes de cargas por exemplo, que podem afetar a qualidade, eficácia e segurança destes produtos (BECK, 2011).

A biossimilaridade é uma propriedade de um produto em relação a outro, considerado como referência, sendo atestada pelo chamado exercício de comparabilidade. Este processo é regulamentado pela Anvisa, através do registro de produtos biológicos pela via de desenvolvimento por comparabilidade, de acordo com a RDC 55/2010, na qual deve ser utilizado o exercício de comparabilidade em termos de qualidade, eficácia e segurança, entre o produto desenvolvido para ser comparável e o produto biológico comparador (ANVISA, 2010).

Caso a empresa queira pleitear o registro de seu produto biológico, sem realizar o exercício de comparabilidade, pode-se optar pela via do desenvolvimento individual, na qual é necessária a apresentação de dados totais sobre o desenvolvimento, produção, controle de qualidade e dados não-clínicos e clínicos para demonstração da qualidade, eficácia e segurança do produto, de acordo com o estabelecido na mesma resolução. (INTERFARMA, 2012).

Pode-se considerar então, que os produtos biológicos registrados pela via da comparabilidade correspondem aos biossimilares; enquanto aqueles aprovados pela via individual são alternativas não biossimilares por não passarem pelo exercício da comparabilidade. Dessa forma, a via individual, assim como a não adoção do termo biossimilar, tem sido interpretada por alguns críticos como um afrouxamento do marco regulatório (INTERFARMA, 2012; GOMES *et al.*, 2016).

A Tabela 2 apresenta os requerimentos da ANVISA para registro dos medicamentos biológicos novos e não novos, de acordo com a RDC nº 55/2010.

Tabela 2: Requerimentos para registro de medicamentos biológicos.

|                                   | <b>Produtos Biológicos Novos</b> | <b>Produtos Biológicos (não novos)</b> |                            |
|-----------------------------------|----------------------------------|--|----------------------------|
|                                   |                                  | <b>Comparabilidade</b>                 | <b>Individual</b>          |
| <b>Manufatura e Qualidade</b>     | Necessários                      | Comparativos                           | De acordo com padrões      |
| <b>Estudos Pré-Clínicos</b>       | Necessários                      | Comparativos                           | Podem ser reduzidos        |
| <b>Estudos Clínicos I e II</b>    | Necessários                      | Comparativos                           | Podem não ser comparativos |
| <b>Estudos Clínicos III</b>       | Necessários                      | Comparativos                           | Comparativos com exceções  |
| <b>Estudos de Imunogenicidade</b> | Necessários                      | Comparativos                           | Necessários                |
| <b>Mesmo comparador</b>           | Não                              | Sim                                    | Não especificado           |
| <b>Plano de Farmacovigilância</b> | Necessário                       | Necessário                             | Necessário                 |
| <b>Extrapolação de Indicações</b> | Não se aplica                    | Possível                               | Não é possível             |

Fonte: adaptado de INTERFARMA, 2012.

Incentivos para o desenvolvimento dos biossimilares são facilidades regulatórias dadas a esses produtos na expiração da patente do medicamento de referência. Estima-se que o lançamento de novos biossimilares na próxima década, possa economizar até US \$250 bilhões no mundo e aumentar o acesso a tratamentos biológicos para mais de 1,2 milhão de pacientes em 2025. Isso amplia as opções de tratamento para pacientes crônicos e permite maior uso de medicamentos biológicos, fornecendo maior acesso a indivíduos que no passado, abandonaram o tratamento ou se voltaram para medicamentos menos efetivos (ASSOCIATION FOR ACCESSIBLE MEDICINES, 2018). Entre os sete biofármacos mais vendidos no mundo, cinco já têm biossimilares registrados na União Europeia e/ou nos Estados Unidos. Nivolumab e Pembrolizumab ainda não possuem biossimilares registrados (BNDES, 2020).

O SUS é um dos responsáveis pela promoção da saúde no Brasil. Sua oferta de medicamentos é organizada em três componentes (Básico, Estratégico e Especializado). A Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (Rename) define a lista de medicamentos disponíveis no SUS para atender as necessidades de saúde prioritárias da população brasileira. Sua definição é realizada em âmbito tripartite, entre os gestores municipais, estaduais e federais. Pesquisa realizada apontou que o gasto do SUS com medicamentos nas três esferas de governo passou de R\$ 14,3 bilhões em 2010 para R\$ 18,6 bilhões em 2016, representando um crescimento de 30% no período (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018a). Por ser um direito fundamental garantido pela constituição federal, o governo também gastou aproximadamente R\$ 7 bilhões por ano, com ações na Justiça, na área da Saúde (INTERFARMA, 2018).

O processo de incorporação de medicamentos ou tecnologias é realizado através da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias do SUS (Conitec). A Conitec elabora uma recomendação à incorporação, exclusão ou alteração da tecnologia em questão com base em dados comparativos de eficácia, segurança, efetividade, custo-efetividade e impacto orçamentário (CONITEC, 2015).

Em julho de 2020, foi anunciada pela Conitec, a recomendação do tratamento de imunoterapia com Pembrolizumab ser incorporado ao Sistema Único de Saúde (SUS) para indicação terapêutica de melanoma em estágio avançado não-cirúrgico e metastático (CONITEC, 2020a). Sua decisão de incorporação entrou em vigor em agosto de 2020 regulamentada pela Portaria SCTIE/MS Nº 23, de 4 de agosto de 2020.

Antigamente, os únicos tratamentos disponíveis pelo SUS para melanoma metastático eram o uso de interferon e a quimioterapia, com importantes efeitos colaterais e pouca eficácia – menos de 20% dos pacientes apresentaram resposta positiva a essas abordagens terapêuticas (FOLHA DE SÃO PAULO, 2020). Conforme relatório divulgado pela Conitec, o novo tratamento a ser oferecido consiste na administração de 2 mg/kg de Pembrolizumab, por infusão intravenosa durante 30 minutos a cada 3 semanas. A recomendação é de que os pacientes devam ser tratados até haver progressão da doença ou toxicidade inaceitável, ou por até 24 meses se não houver progressão da doença (CONITEC, 2020b).

Neste mesmo relatório, foi realizado um estudo de análise econômica. Para o estudo, foram consideradas as propostas de preços apresentadas pela empresa fabricante do medicamento. O custo mensal por paciente com preço proposto pelo fabricante foi de R\$23.724,00 (ICMS 17%) e R\$19.690,02 (ICMS 0%).

A Rename é atualizada a cada dois anos pelo Ministério da Saúde. A última atualização com o elenco de medicamentos e insumos estratégicos disponíveis no SUS e definição da responsabilidade pela compra e distribuição destes, foi publicada na Portaria GM/MS nº 3.047/2019 da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais - Rename 2020 (CONITEC, 2019). Pela incorporação do Pembrolizumab ser recente, o mesmo não consta ainda na relação. Entretanto, devido ao elevado custo de importação, o Pembrolizumab foi incorporado à Lista de Produtos Estratégicos para o SUS, conforme divulgado através da Portaria GM/MS nº 704, de 08 de março de 2017 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Os produtos pertencentes à esta lista são elegíveis para apresentação de novas propostas de projetos de Parceria para o Desenvolvimento Produtivo (PDP), que teve política revisada e reestruturada em 2014 através da Portaria GM/MS N° 2.531 de 12 de novembro de 2014.

A Parceria para o Desenvolvimento Produtivo (PDP) é um programa entre laboratórios públicos nacionais e laboratórios detentores de tecnologia, sejam nacionais ou estrangeiros, com a finalidade de obtenção de conhecimento, capacitação profissional e transferência de tecnologia, para produção local de medicamentos e produtos estratégicos para o SUS que atualmente são importados ou que representam um alto custo para o sistema de saúde. O objetivo é produzir em território nacional e reduzir os custos. No escopo das PDP, também está incluído o desenvolvimento de novas tecnologias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a). Na Figura 6, estão estabelecidas as fases para as parcerias regulamentadas na Portaria GM/MS N° 2.531 de 12 de novembro de 2014.



Figura 6: Etapas de uma Parceria para o Desenvolvimento Produtivo. Adaptado de MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a

Das 85 PDPs vigentes em 2020, 25 são de medicamentos biotecnológicos e 13 referem-se à medicamentos estratégicos para o SUS. Dessas 25 PDPs, apenas seis biossimilares iniciaram fornecimento para o Ministério da Saúde (Fase III) que o disponibiliza de forma gratuita no SUS, referentes aos produtos Betainterferona 1A, Etanercepte, Golimumabe, Infliximabe, Rituximabe e Trastuzumabe, todas do consórcio BioManguinhos/Bionovis e a Somatropina, do consórcio BioManguinhos/Cristália. Outras quatro PDPs chegaram a iniciar fornecimento, mas foram suspensas, conforme Tabela 3. Para o Pembroluzimab, foi apresentado um projeto de PDP para o ano de 2017 pelo consórcio BioManguinhos/Bionovis, porém foi reprovado conforme Portaria N° 731, de 26 de março de 2018 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018b).

Tabela 3: PDPs de medicamentos biotecnológicos

| Produto                  | Instituição pública | Parceiro Privado (nacional)                                       | Parceiro Privado (internacional) | Fase           |
|--------------------------|---------------------|---|----------------------------------|----------------|
| Adalimumabe              | BioManguinhos       | Bionovis S.A - Companhia Brasileira de Biotecnologia Farmacêutica |                                  | II             |
|                          | Butantan            | Libbs Farmacêutica Ltda.  |                                  | II (suspensa)  |
|                          | Butantan            | Libbs Farmacêutica Ltda.  |                                  | II             |
|                          | TECPAR              | Orygen Biotecnologia S/A  | Pfizer Incorporated              | II (suspensa)  |
| Alfataliglicerase        | BioManguinhos       |   | Protalix Biotherapeutics         | IV (Suspensa)  |
| Betainterferona 1ª       | BioManguinhos       | Bionovis S.A - Companhia Brasileira de Biotecnologia Farmacêutica | Merck S.A. (MSD)                 | III            |
| Bevacizumabe             | BioManguinhos       | Bionovis S.A - Companhia Brasileira de Biotecnologia Farmacêutica |                                  | II (suspensa)  |
|                          | Butantan            | Libbs Farmacêutica Ltda.  |                                  | II             |
|                          | TECPAR              | Orygen Biotecnologia S/A  | Pfizer Incorporated              | II (suspensa)  |
| Certolizumabe            | BioManguinhos       | Bionovis S.A - Companhia Brasileira de Biotecnologia Farmacêutica |                                  | II (suspensa)  |
| Etanercepte              | Butantan            | Libbs Farmacêutica Ltda.  |                                  | II             |
|                          | TECPAR              | Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda.                   | Alteogen S.A.                    | II (suspensa)  |
|                          | BioManguinhos       | Bionovis S.A - Companhia Brasileira de Biotecnologia Farmacêutica |                                  | III            |
| Golimumabe               | BioManguinhos       | Bionovis S.A - Companhia Brasileira de Biotecnologia Farmacêutica | Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda. | III            |
| Infliximabe              | TECPAR              | Orygen Biotecnologia S/A  | Pfizer Incorporated              | II (suspensa)  |
|                          | BioManguinhos       | Bionovis S.A - Companhia Brasileira de Biotecnologia Farmacêutica | Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda. | III            |
| Insulina (NPH e Regular) | FUNED               | Biom S.A.   |                                  | II (suspensa)  |
|                          | Bahiafarma          |   | INDAR, PrJSC                     | III (suspensa) |
| Palivizumabe             | Butantan            | Libbs Farmacêutica Ltda.  |                                  | II             |
| Rituximabe               | BioManguinhos       | Bionovis S.A - Companhia Brasileira de Biotecnologia Farmacêutica |                                  | III            |
|                          | Butantan            | Libbs Farmacêutica Ltda.  |                                  | II             |
|                          | TECPAR              | Orygen Biotecnologia S/A  | Pfizer Incorporated              | III (suspensa) |
| Somatropina              | BioManguinhos       | Bionovis S.A - Companhia Brasileira de Biotecnologia Farmacêutica |                                  | III            |
| Tocilizumabe             | BioManguinhos       | Bionovis S.A - Companhia Brasileira de Biotecnologia Farmacêutica |                                  | I              |
| Trastuzumabe             | BioManguinhos       | Bionovis S.A - Companhia Brasileira de Biotecnologia Farmacêutica | Samsung Bioepis                  | III            |
|                          | TECPAR              | Axis Biotec Empreendimentos e Participações Ltda                  | F. Hoffmann- La Roche Ltd.       | III (suspensa) |
|                          | Butantan            | Libbs Farmacêutica Ltda.  |                                  | II (suspensa)  |

Fonte: elaboração própria, com base em informações do MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020b.



## 2.6 Sistema de Produção

Os medicamentos biológicos possuem uma maior complexidade de produção, do que os fármacos tradicionais devido às suas características (CASTILHO, 2010). O processo de produção dos medicamentos biológicos inicialmente utiliza técnicas de DNA recombinante e obtenção da linhagem celular de interesse. Após obtenção da linhagem, as etapas produtivas podem ser divididas em etapa *upstream*, que corresponde à expansão do volume da cultura, e *downstream*, que corresponde às etapas de centrifugação, filtração, purificação, concentração e formulação, conforme Figura 7 (VULTO e JAQUEZ, 2017).



Figura 7: Etapas do processo de produção de biofármacos. Adaptado de VULTO e JAQUEZ, 2017.

### 2.6.1 Expressão em células animais

Em geral, um processo de produção comercial de um anticorpo monoclonal (mAb) começa com a geração de um mAb por imunização de um animal ou por métodos de biologia molecular envolvendo a identificação e otimização da sequência de DNA codificadora e a construção e identificação de um clone estável de alta produção.

A grande maioria dos mAbs atualmente aprovados para fins terapêuticos são produzidos *in vitro* por células recombinantes de mamíferos adaptadas ao crescimento em suspensão e cultivadas em biorreatores de grande escala (GAUGHAN, 2015).

Sendo assim, através da manipulação genética é possível programar células animais para produzirem abundantemente o produto de interesse final, como é o caso dos anticorpos monoclonais. A tecnologia do DNA recombinante consiste basicamente em inserir, no DNA

de outro organismo, genes de interesse responsáveis pela expressão de determinada proteína, fazendo com que esse organismo que recebeu o gene passe a expressá-la. Tal técnica apresenta as seguintes etapas:

- Obtenção dos fragmentos de DNA de interesse;
- Seleção do vetor de clonagem;
- Ligação do gene ao vetor;
- Transfecção do vetor de interesse na célula hospedeira animal;
- Seleção das células hospedeiras que incorporaram o DNA exógeno.

As sequências dos genes de cadeia leve e de cadeia pesada do anticorpo anti PD-1, bioessimular ao Pembrolizumab, podem ser obtidas a partir do banco de dados *DRUG BANK* (número de acesso: DB09037).

Com o objetivo de incluir os sítios de restrição necessários para a etapa de clonagem, os genes de cadeia leve e de cadeia pesada são amplificados pela técnica de reação em cadeia pela polimerase (PCR). A técnica ocorre em ciclos constantes de alternância de temperatura e é baseada na ação da enzima DNA polimerase, que a partir de uma fita molde e de pequenos trechos de nucleotídeos iniciadores chamados primers, realiza a polimerização do fragmento de interesse.

O processo inicia-se com a desnaturação da dupla fita do DNA que contém a sequência a ser amplificada. Posteriormente, a temperatura é reduzida para permitir que os oligonucleotídeos iniciadores anemem-se especificamente nas extremidades ao lado da sequência alvo e nas fitas opostas, etapa conhecida como anelamento. Por fim, novamente há o aumento da temperatura para a polimerização do DNA pela DNA polimerase, denominada fase de extensão. Sendo assim, cada ciclo contém estas três etapas principais: desnaturação, anelamento e extensão, como mostra a Figura 8.

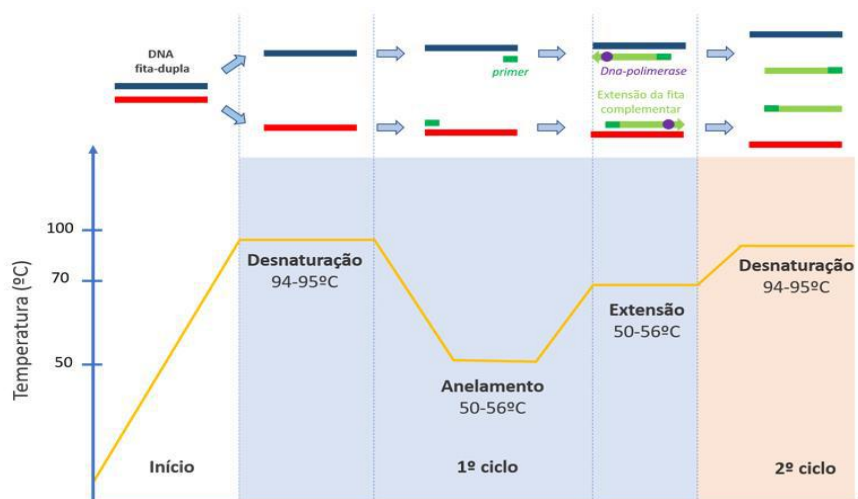


Figura 8: Etapas da técnica em Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Adaptado de GREINER BIO-ONE, 2020.

Novas fitas duplas de DNA são formadas as quais, sob a ação do início do próximo ciclo com o aumento da temperatura, também sofrerão as mesmas etapas, resultando em uma amplificação exponencial do fragmento desejado (KADRI, 2019).

Após a obtenção dos genes de interesse tanto da cadeia leve como da cadeia pesada, deve ser selecionado o vetor de clonagem, que pode ser plasmidial ou viral. Deste vetor, são retirados segmentos não necessários à sobrevivência e inserem-se os fragmentos de interesse que foram amplificados, os quais são incorporados ao cassete de expressão através do auxílio de enzimas de restrição, que clivam o material genético original do vetor, e pela DNA ligase, que permite a inserção. Consequentemente é construído o vetor de expressão que é capaz de se propagar rapidamente e permitirá a síntese do anticorpo monoclonal humanizado (MERCK SHARP & DOHME B.V., 2008).

Após construção do vetor de expressão, este é inserido na célula hospedeira. Duas metodologias principais são utilizadas na transferência de genes para células animais: a transfecção (transferência direta do DNA por métodos físicos, químicos ou biológicos) e a infecção (transferência mediada por infecção com um vírus que contém um gene específico integrado ao seu genoma). No caso do Pembrolizumab, o método de transferência do plasmídeo para a célula hospedeira é o de transfecção e a célula hospedeira preferencial é a de ovário de hamster chinês (CHO - *Chinese Hamster Ovary*) (MERCK SHARP & DOHME B.V., 2008).

### 2.6.2 Cultivo em células animais

As células de mamífero mais utilizadas na produção de anticorpos recombinantes são CHO (*Chinese hamster ovary*) e as linhagens de mieloma murino NS0 e Sp2/0. Outros tipos, como BHK (*baby hamster kidney*), HEK-293 (*human embryonic kidney*) e a linhagem PER.C6, derivada da retina humana, também têm sido empregados (GAUGHAN, 2015). Entretanto, a linhagem CHO é a mais utilizada, devido ao seu rápido crescimento, facilidade de transfecção do gene de interesse, capacidade de realizar modificações pós-traducionais corretamente, bem como pela segurança que oferece em relação à suscetibilidade a patógenos humanos (KIM, KIM e LEE, 2012).

A produção de mAbs em escala comercial pode ser realizada com células aderentes ou células em suspensão, embora a última seja a mais usada e mais bem estabelecida como metodologia de produção eficiente disponível para o cultivo celular. As vantagens do sistema de produção em suspensão são a facilidade de escalabilidade da produção e a não necessidade de um biorreator com grande área para adesão celular, uma vez que a produtividade do cultivo celular aderente está diretamente ligada à área disponível no biorreator (CARVALHO *et al.*, 2017).

Os diferentes tipos de biorreatores comumente usados para a produção de mAb a partir de células em suspensão são biorreatores de tanque agitado de aço inoxidável (STR), reatores *air-lift* e biorreatores descartáveis, que utilizam a tecnologia de uso único (*single-use*) (CARVALHO *et al.*, 2017).

O *single use* é uma tecnologia empregada na produção de biofármacos, que utiliza biorreatores com bolsas estéreis, e outros dispositivos descartáveis. As principais vantagens conferidas de sua utilização são a flexibilidade de produção e a otimização do processo, já que as bolsas *single-use* dispensam operações de lavagem e esterilização, etapas essas conhecidas como *Cleaning in place* (CIP) e *Sterilization in place* (SIP), as quais na produção de biofármacos acrescentam custos extras na produção final e aumento do tempo de produção (INTERFARMA, 2016).

Sendo assim, o uso da tecnologia de *single-use*, pode viabilizar o processo produtivo de medicamentos biológicos, auxiliando na diminuição do custo inicial da produção e minimizando os riscos de contaminação cruzada. Esta tecnologia pode ser utilizada desde a

etapa de desenvolvimento até em grandes escalas da produção de biofármacos, tanto nas etapas de *upstream* como *downstream* (BOEDEKER, 2014).

Os modos de operação mais empregados na indústria para a produção de mAbs são atualmente a batelada, a batelada alimentada e o processo contínuo com retenção de células ou perfusão (GAUGHAN, 2015).

O cultivo em batelada é descontínuo, em que após a inoculação não há qualquer suplemento adicional de substrato para o crescimento celular, mantendo-se o volume constante durante todo o processo. Conforme o processo é executado, a concentração de nutrientes diminui e os metabólitos residuais são produzidos, diminuindo a viabilidade celular. Dessa forma, apesar de ser um processo simples, o cultivo em batelada não é a plataforma de produção mais adequada para culturas de células animais, pois o ambiente dentro do reator rapidamente se torna desfavorável ao crescimento celular (CARVALHO *et al.*, 2017).

Na batelada alimentada, o cultivo é iniciado com um volume menor do que o máximo suportado, pois ao longo da metabolização do substrato pelas células, são adicionados mais nutrientes, normalmente em concentrações maiores. Dessa forma, é possível obter concentrações maiores de células e produto. São também algumas vantagens do processo: a eliminação da repressão catabólica, o aumento do tempo de cultivo e a diminuição da formação de subprodutos indesejáveis.

Nos processos contínuos com retenção de células ou perfusão, o reator opera continuamente trocando o meio de cultivo a partir do estabelecimento de uma corrente de alimentação de meio fresco e de uma corrente de saída. Nesta corrente de saída, há um equipamento de retenção acoplado, do qual duas correntes são geradas: a do perfundido (ou sobrenadante isento ou quase isento de células, contendo o produto de interesse), e a de células concentradas, que são recicladas ao reator, conforme Figura 9. A contínua renovação do meio, quando acompanhada de uma remoção pequena e controlada de células e dos subprodutos metabolizados, proporciona um ambiente constante às células, com impactos positivos ao metabolismo celular e à qualidade do produto, favorecendo altas produtividades em cultivos de alta densidade celular (CHOTTEAU, 2015).

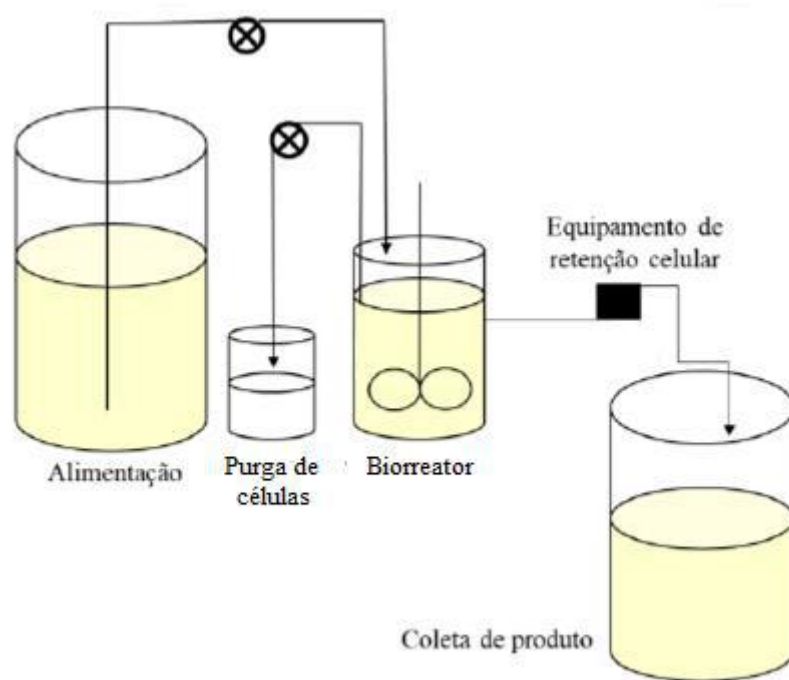


Figura 9: Representação esquemática de um processo de perfusão com equipamento de retenção celular externo ao reator. Adaptado de CHICO *et al*, 2008.

Desta forma, o modo de operação em perfusão traz diversas vantagens, como menor tempo de residência do produto no biorreator, remoção contínua de metabólitos tóxicos e maior produtividade volumétrica. Entretanto, é um sistema mais complexo tecnologicamente e operacionalmente comparado à operação nos modos batelada e batelada alimentada.

A maior produtividade volumétrica alcançada por este modo de operação tem como característica um menor volume de biorreator para uma mesma quantidade de produção de produto (CASTILHO, 2014). Desse modo, como se trabalha com volumes menores, o valor de investimento fixo também é menor.

A maioria dos processos produtivos de mAbs são baseados na batelada alimentada (CARVALHO *et al.*, 2017). Dessa forma, o processo original para a produção do Pembrolizumab desenvolvido pela Merck utiliza esta metodologia (MSD IRELAND, 2019). Entretanto, atualmente é possível desenvolver o processo por perfusão que apresenta inúmeras vantagens já comentadas, algumas especificadas na Tabela 4.

Tabela 4: Comparativo entre modos de operação utilizados na produção de mAbs

| Modo de Operação    | Concentração Celular | Complexidade | Volume do Biorreator (L) | Produtividade (mg/L/dia) |
|---------------------|----------------------|--------------|--------------------------|--------------------------|
| Batelada Alimentada | Até $2 \times 10^7$  | Baixa        | Até 10000                | 10-30                    |
| Perfusão            | Até $13 \times 10^7$ | Média        | 30-2000                  | 50-100                   |

Fonte: Adaptado de MARQUES, 2005 e ALVIM, informação pessoal.

Para que um processo possa ser operado em perfusão de forma eficiente, é necessário um equipamento de retenção adequado para reter as células no biorreator enquanto o produto é coletado. A escolha deste deve levar em consideração fatores como: eficiência de separação, efeito no crescimento e viabilidade celular e a possibilidade de operação por longos períodos sem queda de desempenho (CASTILHO, 2014).

Na Tabela 5 podem ser observados alguns equipamentos de retenção celular classificados segundo princípio envolvido durante a separação.

Tabela 5: Exemplos de equipamentos de retenção celular e seus princípios de separação.

| Princípio de separação            | Equipamento                        | Fornecedor                            |
|-----------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|
| Sedimentação gravitacional        | Sedimentador lamelado              | Sudhin Biopharma, Technology Services |
| Sedimentação em campo centrífugo  | Hidrociclone                       | -                                     |
|                                   | Centrífugas (ex: Centritect®)      | PneumaticScaleAngelus                 |
| Agregação por ondas ultrassônicas | Separador acústico (Biosep®)       | Applikon Biotechnology                |
| Filtração                         | Tangencial                         | Diversos fabricantes                  |
|                                   | Tangencial Alternada (XCell™ ATF®) | Repligen                              |
|                                   | Com filtros de malha rotatório     | Diversos fabricantes                  |

Fonte: Adaptado de CARVALHO e CASTILHO, 2017.

Dentre estes dispositivos de retenção celular, os equipamentos baseados nos princípios de filtração ou sedimentação são frequentemente utilizados. Entretanto, os equipamentos de filtração de fluxo tangencial (TFF - *Tangential Flow Filtration*) e de filtração tangencial alternada (ATF - *Alternating Tangential Filtration*) apresentam uma desvantagem inerente devido à fenômenos de entupimentos e incrustações da membrana, levando à retenção de

produto no interior do biorreator e à necessidade de troca do dispositivo de retenção ou até interrupção do processo.

Desta maneira, entre os equipamentos de retenção baseados no princípio de sedimentação, destacam-se os hidrociclones. Além de serem muito compactos, não possuem partes móveis, não requerendo nenhuma manutenção ao longo de sua vida útil, evitando adicionais riscos de contaminação e permitindo períodos de produção prolongados (BETTINARDI *et al.*, 2020).

O hidrociclone é um equipamento constituído por uma seção cônica acoplada a uma porção cilíndrica, que é iniciada com uma entrada tangencial e fechada por um prato com duto axial de overflow. O final do cone é uma abertura circular, chamada de orifício de underflow.

Dessa forma, a corrente de alimentação do equipamento é introduzida tangencialmente no duto de entrada na parte superior da seção cilíndrica, adquirindo um forte movimento para baixo em vórtice. Como o orifício de underflow é pequeno para permitir uma descarga completa, somente parte do líquido escapa pelo underflow carregando as partículas grossas. A outra parte do líquido reverte seu escoamento na direção vertical e sobe em um movimento de vórtice ainda mais forte e saindo pelo duto de overflow carregando as partículas mais finas. A Figura 10 mostra uma visão esquemática de um hidrociclone.

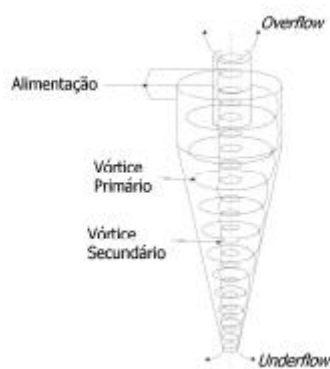


Figura 10: Visão esquemática de um hidrociclone. Adaptado de CASTILHO e MEDRONHO, 2002

### 2.6.3 Processos de purificação

A fabricação comercial de anticorpos terapêuticos requer processos robustos e confiáveis que sejam econômicos e proporcionem altos rendimentos de um produto puro e seguro para uso humano. Deste modo, o processo de purificação é necessário e ocorre após a



etapa de cultivo celular em que o produto é excretado para o meio de cultivo. O objetivo é isolar a proteína alvo de contaminantes como proteínas da célula hospedeira (HCPs), DNA da célula hospedeira (hDNA), debris celulares, vírus, endotoxinas e outros resíduos usando várias operações de unidade, como filtração e cromatografia. Além disso, etapas ortogonais<sup>8</sup> de eliminação viral são implementadas para minimizar a imunogenicidade<sup>9</sup> (KORNECKI *et al.*, 2019).

### 2.6.3.1 Cromatografia

A cromatografia é uma técnica baseada na separação de solutos do solvente, através da diferença de migração produzida pela interação de duas fases: a móvel, representada pelo solvente, e a estacionária, representada por uma matriz sólida porosa (resina) (COLLINS e BRAGA, 1988). A disponibilidade de grande variedade de resinas comerciais permite a separação do produto de interesse, segundo características de carga e tamanho.

O processo de purificação do Pembrolizumab compreende três etapas cromatográficas, sendo elas: cromatografia de afinidade por proteína A, cromatografia de troca catiônica e cromatografia de troca aniônica (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2020).

A cromatografia de afinidade por proteína A é uma espécie de cromatografia de adsorção, em que a coluna é preenchida por uma matriz porosa que contém ligantes específicos da molécula de interesse a ser purificada. Os ligantes são derivados de uma cepa de *Staphylococcus aureus* e compostos por cinco domínios de ligação de imunoglobulina, cada um dos quais é capaz de se ligar a proteínas de muitas espécies de mamíferos, principalmente IgG (CHOE, DURGANNAVAR e CHUNG, 2016).

A cromatografia de troca iônica é baseada na separação de moléculas de acordo com suas cargas superficiais, podendo ser utilizada para reter em sua matriz sólida tanto a molécula de interesse como impurezas.

Os suportes são trocadores iônicos classificados como catiônicos ou aniônicos. Os catiônicos possuem grupamentos ácidos, permitindo a fixação de moléculas com carga positiva, e os aniônicos, de forma contrária, possuem grupamentos básicos permitindo a retenção de substâncias de carga negativa (SHEN, 2019).

---

<sup>8</sup> Método adicional que forneça seletividade muito diferente do método primário (ZHENG e RASMUSSEN, 2009).

<sup>9</sup> Imunogenicidade é a propriedade de um componente — um agente infeccioso ou uma grande molécula — de despertar uma reação imune (INTERFARMA, 2012).

### **2.6.3.2 Membranas**

Os processos de separação por membranas ocorrem através da passagem de determinados componentes enquanto outros ficam retidos na membrana, que funciona como uma barreira seletiva quando em contato com o fluido que contém as moléculas que se deseja separar. Portanto, a natureza física e química da membrana, como porosidade e distribuição dos poros, são determinantes para o processo de separação.

No processo produtivo de Pembrolizumab, os processos de separação utilizados são a ultrafiltração (UF) e diafiltração (DF) (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2020).

A UF é um processo de separação por membrana conduzido por um gradiente de pressão, no qual a membrana fraciona componentes dissolvidos e dispersos de um líquido em função de seu tamanho e estrutura solvatados. Enquanto a DF é um tipo especializado de processo de UF mais frequentemente utilizado para substituir a solução tampão em que o produto de interesse está suspenso (IVT, 2013).

### **2.6.3.3 Eliminação viral**

A remoção de vírus do fluxo da produção de mAb é essencial para garantir a segurança do produto (JOHNSON *et al.*, 2017). Geralmente no processo produtivo de mAbs há duas etapas ortogonais para a eliminação viral, como no caso do Pembrolizumab (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2020). Estas etapas incluem a inativação e remoção viral por filtração.

A filtração viral é uma operação crítica na produção de mAbs e componente-chave da maioria das estratégias de eliminação viral. Esta etapa é uma ferramenta tecnológica para remoção de vírus de diferentes tamanhos. A remoção de vírus nos filtros é baseada nos princípios de exclusão de tamanho (MERCK MILLIPORE, 2019).

A inativação é realizada com o objetivo de inativar e/ou eliminar vírus presentes na solução que contém o produto que será formulado e envasado. Esta etapa é imprescindível no processo de purificação de medicamentos injetáveis, pois evitará o desencadeamento de reações imunogênicas nos pacientes que o utilizarem.

Há várias técnicas disponíveis para a inativação viral, entre elas estão: a radiação ultravioleta, técnica do solvente e detergente (SD), pasteurização, tratamento com calor, etc. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004). No processo de produção do Pembrolizumab,

a técnica do pH ácido é a utilizada. Na corrente de eluição da cromatografia de proteína A é adicionado ácido acético glacial e hidróxido de sódio para ajuste do pH (MSD IRELAND, 2019).

### **3. ANÁLISE DE MERCADO: PROJEÇÃO DA DEMANDA E PRODUÇÃO ESTIMADA**

O Pembrolizumab é utilizado no Brasil para o tratamento de 8 indicações terapêuticas, porém até o final de 2020, o SUS apenas incorporou uma dessas indicações. Para as outras indicações, o paciente pode buscar na Justiça, o direito de receber o medicamento, dado que a Constituição Federal prevê que o acesso a medicamentos é um direito fundamental (GUERRA, 2013). Entretanto, a quantidade de empecilhos enfrentados pelos pacientes impede que parte da população consiga direito a este medicamento.

Realizando uma análise mais criteriosa acerca das indicações terapêuticas do Pembrolizumab, três destas são para pacientes que já tenham recebido uma ou mais linhas de terapias anteriores, não sendo o Pembrolizumab utilizado como medicamento de primeira linha para o tratamento das seguintes doenças: câncer gástrico (CG), linfoma de Hodgkin clássico (LHc) e câncer esofágico (EC).

Complementarmente a esta análise sobre as indicações e comparando-as com a de outros medicamentos incorporados ou em processo de incorporação ao SUS, uma destas se destaca: carcinoma de células renais (RCC). Para o tratamento de primeira linha de pacientes com câncer de células renais avançado e/ou metastático é indicado também pela Anvisa, o medicamento biológico Bevacizumab, em combinação com Alfainterferona 2ª, ambos contemplados em PDP em desenvolvimento, somada a esta observação, em 2019 foi incorporado após deliberação positiva pela CONITEC, a incorporação de dois medicamentos, o cloridrato de pazopanibe e malato de sunitinibe, para esta indicação.

Desta forma, a definição da escala de produção da planta em questão será baseada na demanda brasileira do medicamento Pembrolizumab para as quatro indicações terapêuticas restantes: melanoma, câncer de pulmão de células não pequenas (CPCNP), carcinoma urotelial (UC) e câncer de cabeça e pescoço (HNSCC).

Como a recomendação de uso pelos pacientes tratados por este medicamento é até que haja progressão da doença ou toxicidade inaceitável, ou por até 24 meses em pacientes sem progressão da doença, a duração do tratamento não será realizada pelo restante de vida do paciente. Sabendo-se que a incidência é uma medida da ocorrência de novos casos durante um período especificado em uma população em risco de ter a doença e a prevalência, medida que se refere a casos novos e casos existentes da doença; a incidência por focar apenas os casos

novos, será o melhor parâmetro para estimativa da presente demanda. Caso o tratamento para esta medicação fosse por um período mais longo, a informação do número de pacientes diagnosticados e que continuam o tratamento seria relevante, devendo-se então escolher a medida de prevalência como parâmetro.

Para o cálculo da demanda, os dados de incidência de cada uma dessas doenças na população brasileira foram obtidos partir dos relatórios bianuais “Incidência de Câncer no Brasil”, emitidos pelo INCA/Ministério da Saúde nos anos de 2018 e 2020 (SANTOS, 2018; INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2020c).

Através do número estimado de casos de todos os tipos de câncer no Brasil para homens e mulheres nos anos de 2018 e 2020, e o respectivo quantitativo da população em cada um desses anos (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2018), foi calculado o percentual de casos de câncer por ano. Para a projeção de número de casos futuros, foi calculada a média aritmética desses percentuais, obtendo-se o valor de 0,28%. A Tabela 6 apresenta estes cálculos.

Tabela 6: Histórico da ocorrência dos cânceres em homens e mulheres.

| HISTÓRICO DE CASOS DE CÂNCER NO BRASIL |                 |                |                      |                 |                |                      |
|--|-----------------|----------------|----------------------|-----------------|----------------|----------------------|
| HOMENS                                 |                 |                |                      | MULHERES        |                |                      |
| Ano                                    | Casos de Câncer | População IBGE | % de casos de Câncer | Casos de Câncer | População IBGE | % de casos de Câncer |
| 2018                                   | 300.140         | 101.971.173    | 0,29%                | 282.450         | 106.523.727    | 0,28%                |
| 2020                                   | 309.750         | 103.527.689    | 0,30%                | 316.280         | 108.228.003    | 0,29%                |
| Média                                  | 304.945         | 102.749.431    | 0,30%                | 299.365         | 107.375.865    | 0,28%                |

A projeção da ocorrência de todos os tipos de câncer para os próximos 18 anos foi obtida ao aplicar a média do percentual de casos de câncer calculada anteriormente sobre a projeção da população brasileira estimada pelo IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2018).

Além disso, a partir das estimativas de incidência de casos encontradas especificamente para cada indicação, foi calculado seu percentual de casos dentre os casos de todos os tipos de câncer para cada ano disponível e obtida a média aritmética destes valores. As Tabelas 7, 10, 13, e 16 apresentam estes cálculos.

Em seguida, sobre a projeção encontrada de ocorrência de todos os tipos de câncer para os próximos 18 anos, foi aplicada a média do percentual de casos calculada anteriormente para homens e mulheres para cada indicação terapêutica, obtendo-se então a projeção de número de casos de cada indicação por ano entre 2021 e 2038 para cada gênero. Ao final, foi calculado o número total de casos de cada indicação para os próximos 18 anos. As Tabelas 8, 11, 14, e 17 apresentam estes cálculos.

A metodologia inicial de cálculo utilizada para a demanda das indicações terapêuticas selecionadas foi realizada de forma similar, porém algumas particularidades a respeito do uso do Pembrolizumab serão consideradas para o cálculo final da demanda. Dessa forma, os cálculos iniciais realizados para cada indicação, bem como as particularidades de cada indicação serão apresentadas nas seções a seguir.

### 3.1 Melanoma

A Tabela 7 apresenta os resultados encontrados de % de casos de melanoma na população masculina e feminina brasileira.

Tabela 7: Histórico da ocorrência de Melanoma em homens e mulheres.

| Ano   | HOMENS            |                 |  | MULHERES          |                 |  |
|-------|-------------------|-----------------|--|-------------------|-----------------|--|
|       | Casos de Melanoma | Casos de Câncer | % casos de Melanoma dentre todos os cânceres | Casos de Melanoma | Casos de Câncer | % casos de Melanoma dentre todos os cânceres |
| 2018  | 2.920             | 300.140         | 0,97%  | 3.340             | 282.450         | 1,18%  |
| 2020  | 4.200             | 309.750         | 1,36%  | 4.250             | 316.280         | 1,34%  |
| Média | 3.560             | 304.945         | 1,17%  | 3.795             | 299.365         | 1,27%  |

A Tabela 8 a seguir apresenta a projeção de número de casos de melanoma em cada ano entre 2021 e 2028 encontrada para população brasileira, considerando que os percentuais da média de casos de câncer e melanoma para a população masculina são, respectivamente, 0,30% e 1,17% e os percentuais da média de casos de câncer e melanoma para a população feminina são, respectivamente, 0,28% e 1,27%.

Tabela 8: Projeção de Melanoma na população brasileira

| Ano  | Projeção masculina da População IBGE | Projeção masculina casos de Câncer | Projeção masculina de casos de Melanoma | Projeção feminina da População IBGE | Projeção feminina casos de Câncer | Projeção feminina de casos de Melanoma | Projeção total casos de Melanoma |
|------|--------------------------------------|------------------------------------|---|-------------------------------------|-----------------------------------|--|----------------------------------|
| 2021 | 104271843,00                         | 309463,3                           | 3612,75                                 | 109045796,00                        | 304020,8                          | 3854,02                                | 7467                             |
| 2022 | 104990487,00                         | 311596,1                           | 3637,65                                 | 109838053,00                        | 306229,6                          | 3882,02                                | 7520                             |
| 2023 | 105681529,00                         | 313647                             | 3661,59                                 | 110602740,00                        | 308361,6                          | 3909,05                                | 7571                             |
| 2024 | 106345043,00                         | 315616,2                           | 3684,58                                 | 111339419,00                        | 310415,4                          | 3935,08                                | 7620                             |
| 2025 | 106981304,00                         | 317504,6                           | 3706,62                                 | 112047789,00                        | 312390,4                          | 3960,12                                | 7667                             |
| 2026 | 107589495,00                         | 319309,6                           | 3727,70                                 | 112727035,00                        | 314284,1                          | 3984,13                                | 7712                             |
| 2027 | 108168830,00                         | 321029                             | 3747,77                                 | 113376404,00                        | 316094,6                          | 4007,08                                | 7755                             |
| 2028 | 108718587,00                         | 322660,6                           | 3766,82                                 | 113995082,00                        | 317819,4                          | 4028,94                                | 7796                             |
| 2029 | 109238514,00                         | 324203,6                           | 3784,83                                 | 114582791,00                        | 319458                            | 4049,72                                | 7835                             |
| 2030 | 109728762,00                         | 325658,6                           | 3801,82                                 | 115139700,00                        | 321010,7                          | 4069,40                                | 7871                             |
| 2031 | 110189007,00                         | 327024,6                           | 3817,76                                 | 115665408,00                        | 322476,3                          | 4087,98                                | 7906                             |
| 2032 | 110618592,00                         | 328299,5                           | 3832,65                                 | 116159210,00                        | 323853,1                          | 4105,43                                | 7938                             |
| 2033 | 111017537,00                         | 329483,5                           | 3846,47                                 | 116621044,00                        | 325140,7                          | 4121,75                                | 7968                             |
| 2034 | 111386062,00                         | 330577,2                           | 3859,24                                 | 117051060,00                        | 326339,5                          | 4136,95                                | 7996                             |
| 2035 | 111724392,00                         | 331581,3                           | 3870,96                                 | 117449293,00                        | 327449,8                          | 4151,03                                | 8022                             |
| 2036 | 112032426,00                         | 332495,5                           | 3881,63                                 | 117815406,00                        | 328470,5                          | 4163,97                                | 8046                             |
| 2037 | 112309958,00                         | 333319,2                           | 3891,25                                 | 118149104,00                        | 329400,9                          | 4175,76                                | 8067                             |
| 2038 | 112557327,00                         | 334053,4                           | 3899,82                                 | 118450544,00                        | 330241,3                          | 4186,41                                | 8086                             |

No SUS, está disponível o tratamento com Pembrolizumab para melanoma avançado não-cirúrgico e metastático, que representa 26,2% de todos os casos de melanoma (CORRÊA *et al.*, 2019). Portanto, será considerada esta porcentagem de casos para o cálculo da demanda nos próximos 18 anos. Para que a demanda calculada a se traduza em demanda mássica, foi realizada sua conversão a partir da posologia indicada nos ciclos anuais de tratamento.

Para o melanoma, o ciclo de tratamento é anual, correspondendo a uma infusão de 2 mg/kg repetida a cada 3 semanas. Considerando que a cada 21 dias, há um novo ciclo, no total de um ano (365 dias), serão aproximadamente 17 ciclos. De acordo também com o relatório Pesquisa 2008-2009 realizado pelo IBGE, a média do peso em quilogramas da população adulta brasileira é de 65,78 kg (IBGE, 2008). Portanto, por paciente são 2236,52 mg de Pembrolizumab no ano.

Dessa forma, a Tabela 9 apresenta o total demandado de Pembrolizumab entre os anos de 2021 e 2038 para melanoma.

Tabela 9: Produção necessária para atender a demanda dos casos de Melanoma.

| Ano  | Casos Totais | Casos tratados no SUS | Total de Pembrolizumab (kg/ano) |
|------|--------------|-----------------------|---------------------------------|
| 2021 | 7467         | 1956                  | 4,38                            |
| 2022 | 7520         | 1970                  | 4,41                            |
| 2023 | 7571         | 1984                  | 4,44                            |
| 2024 | 7620         | 1996                  | 4,46                            |
| 2025 | 7667         | 2009                  | 4,49                            |
| 2026 | 7712         | 2020                  | 4,52                            |
| 2027 | 7755         | 2032                  | 4,54                            |
| 2028 | 7796         | 2042                  | 4,57                            |
| 2029 | 7835         | 2053                  | 4,59                            |
| 2030 | 7871         | 2062                  | 4,61                            |
| 2031 | 7906         | 2071                  | 4,63                            |
| 2032 | 7938         | 2080                  | 4,65                            |
| 2033 | 7968         | 2088                  | 4,67                            |
| 2034 | 7996         | 2095                  | 4,69                            |
| 2035 | 8022         | 2102                  | 4,70                            |
| 2036 | 8046         | 2108                  | 4,71                            |
| 2037 | 8067         | 2114                  | 4,73                            |
| 2038 | 8086         | 2119                  | 4,74                            |

### 3.2 Câncer de pulmão de células não pequenas (CPCNP)

A Tabela 10 apresenta os resultados encontrados de % de casos de câncer de pulmão (CP) para a população masculina e feminina brasileira.

Tabela 10: Histórico da ocorrência de CP em homens e mulheres.

| HOMENS |             |                 |  | MULHERES    |                 |  |
|--------|-------------|-----------------|--|-------------|-----------------|--|
| Ano    | Casos de CP | Casos de Câncer | % casos de CP dentre todos os cânceres | Casos de CP | Casos de Câncer | % casos de CP dentre todos os cânceres |
| 2018   | 18.740      | 300.140         | 6,24%                                  | 12.530      | 282.450         | 4,44%                                  |
| 2020   | 17.760      | 309.750         | 5,73%                                  | 12.440      | 316.280         | 3,93%                                  |
| Média  | 18.250      | 304.945         | 5,98%                                  | 12.485      | 299.365         | 4,17%                                  |

A Tabela 11 a seguir apresenta a projeção de número de casos de CP em cada ano entre 2021 e 2038 encontrada para população brasileira, considerando que os percentuais da média de casos de câncer e CP para a população masculina são, respectivamente, 0,30% e 5,98% e os percentuais da média de casos de câncer e CP para a população feminina são, respectivamente, 0,28% e 4,17%.



Tabela 11: Projeção de CP na população brasileira

| Ano  | Projeção masculina da População IBGE | Projeção masculina casos de Câncer | Projeção masculina de casos de CP | Projeção feminina da População IBGE | Projeção feminina casos de Câncer | Projeção feminina de casos de CP | Projeção total casos de CP |
|------|--------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------|
| 2021 | 104271843,00                         | 309463,3                           | 18520,41                          | 109045796,00                        | 304020,8                          | 12679,17                         | 31200                      |
| 2022 | 104990487,00                         | 311596,1                           | 18648,05                          | 109838053,00                        | 306229,6                          | 12771,29                         | 31419                      |
| 2023 | 105681529,00                         | 313647                             | 18770,79                          | 110602740,00                        | 308361,6                          | 12860,20                         | 31631                      |
| 2024 | 106345043,00                         | 315616,2                           | 18888,64                          | 111339419,00                        | 310415,4                          | 12945,86                         | 31835                      |
| 2025 | 106981304,00                         | 317504,6                           | 19001,65                          | 112047789,00                        | 312390,4                          | 13028,22                         | 32030                      |
| 2026 | 107589495,00                         | 319309,6                           | 19109,68                          | 112727035,00                        | 314284,1                          | 13107,20                         | 32217                      |
| 2027 | 108168830,00                         | 321029                             | 19212,57                          | 113376404,00                        | 316094,6                          | 13182,71                         | 32395                      |
| 2028 | 108718587,00                         | 322660,6                           | 19310,22                          | 113995082,00                        | 317819,4                          | 13254,64                         | 32565                      |
| 2029 | 109238514,00                         | 324203,6                           | 19402,57                          | 114582791,00                        | 319458                            | 13322,98                         | 32726                      |
| 2030 | 109728762,00                         | 325658,6                           | 19489,64                          | 115139700,00                        | 321010,7                          | 13387,73                         | 32877                      |
| 2031 | 110189007,00                         | 327024,6                           | 19571,39                          | 115665408,00                        | 322476,3                          | 13448,86                         | 33020                      |
| 2032 | 110618592,00                         | 328299,5                           | 19647,69                          | 116159210,00                        | 323853,1                          | 13506,27                         | 33154                      |
| 2033 | 111017537,00                         | 329483,5                           | 19718,55                          | 116621044,00                        | 325140,7                          | 13559,97                         | 33279                      |
| 2034 | 111386062,00                         | 330577,2                           | 19784,01                          | 117051060,00                        | 326339,5                          | 13609,97                         | 33394                      |
| 2035 | 111724392,00                         | 331581,3                           | 19844,10                          | 117449293,00                        | 327449,8                          | 13656,28                         | 33500                      |
| 2036 | 112032426,00                         | 332495,5                           | 19898,81                          | 117815406,00                        | 328470,5                          | 13698,85                         | 33598                      |
| 2037 | 112309958,00                         | 333319,2                           | 19948,11                          | 118149104,00                        | 329400,9                          | 13737,65                         | 33686                      |
| 2038 | 112557327,00                         | 334053,4                           | 19992,04                          | 118450544,00                        | 330241,3                          | 13772,70                         | 33765                      |

Para esta indicação, não há incorporação no SUS do Pembrolizumab. Entretanto, pela Anvisa, é indicado para o tratamento de primeira linha de câncer de pulmão de células não pequenas (CPCNP) não escamoso e metastático em combinação com quimioterapia a base de platina e pemetrexede ou com carboplatina e paclitaxel. Também indicado em monoterapia em pacientes que estejam em estágio III ou metastático com presença positiva de expressão de PD-L1 (ANVISA, 2020b).

O CPCNP representa cerca de 85% dos casos de câncer de pulmão, destes cerca de 40% representam pacientes que terão a doença metastática fora do tórax no momento do diagnóstico (PUGA, 2020). Além disso, conforme informado anteriormente, os pacientes devem ser selecionados para o tratamento com base na presença positiva de expressão de PD-L1, que para CPCNP em geral representa uma porcentagem de 38,6% (HARTT, 2018). Por fim, para esta indicação terapêutica, o biofármaco Bevacizumab em combinação com quimioterapia é indicado pela Anvisa para o tratamento de pacientes com CPCNP localmente avançado, metastático ou recorrente.

Portanto, a partir da projeção da casos de CP para os próximos 18 anos obtida, 85% representam o número de casos de CPCNP da população, dos quais 40% representam os casos metastáticos, 38,6% apresentam presença positiva de expressão de PD-L1 e destes, a parcela de 1/2 receberá o tratamento com Pembrolizumab.

A partir da posologia indicada nos ciclos anuais de tratamento<sup>10</sup>, é obtida a massa total a ser produzida deste anticorpo monoclonal para esta indicação terapêutica.

Dessa forma, a Tabela 12 apresenta o total demandado de Pembrolizumab entre os anos de 2021 e 2038 para esta indicação terapêutica.

Tabela 12: Produção necessária para atender a demanda dos casos de CPCNP.

| Ano  | Casos Totais | Casos tratados no SUS | Total de Pembrolizumab (kg/ano) |
|------|--------------|-----------------------|---------------------------------|
| 2021 | 31200        | 2047                  | 6,96                            |
| 2022 | 31419        | 2062                  | 7,01                            |
| 2023 | 31631        | 2076                  | 7,06                            |
| 2024 | 31835        | 2089                  | 7,10                            |
| 2025 | 32030        | 2102                  | 7,15                            |
| 2026 | 32217        | 2114                  | 7,19                            |
| 2027 | 32395        | 2126                  | 7,23                            |
| 2028 | 32565        | 2137                  | 7,27                            |
| 2029 | 32726        | 2147                  | 7,30                            |
| 2030 | 32877        | 2157                  | 7,34                            |
| 2031 | 33020        | 2167                  | 7,37                            |
| 2032 | 33154        | 2176                  | 7,40                            |
| 2033 | 33279        | 2184                  | 7,42                            |
| 2034 | 33394        | 2191                  | 7,45                            |
| 2035 | 33500        | 2198                  | 7,47                            |
| 2036 | 33598        | 2205                  | 7,50                            |
| 2037 | 33686        | 2210                  | 7,52                            |
| 2038 | 33765        | 2216                  | 7,53                            |

### 3.3 Câncer de cabeça e pescoço

O câncer de cabeça e pescoço (CCP) inclui câncer de boca, laringe e demais sítios dessa região. A Tabela 13 apresenta os resultados encontrados de % de casos de câncer de boca e laringe para a população masculina e feminina brasileira.

<sup>10</sup> Para CPCNP, o ciclo de tratamento é anual, correspondendo a uma infusão de 200 mg tanto em monoterapia como em combinação a ser repetida a cada 3 semanas. Portanto, por paciente são 3400 mg de pembrolizumab no ano.

Tabela 13: Histórico da ocorrência dos cânceres e CCP em homens e mulheres.

| HOMENS |              |                 |   | MULHERES     |                 |   |
|--------|--------------|-----------------|---|--------------|-----------------|---|
| Ano    | Casos de CCP | Casos de Câncer | % casos de CCP dentre todos os cânceres | Casos de CCP | Casos de Câncer | % casos de CCP dentre todos os cânceres |
| 2018   | 17.590       | 300.140         | 5,86%                                   | 4.780        | 282.450         | 1,69%                                   |
| 2020   | 17.650       | 309.750         | 5,70%                                   | 5.190        | 316.280         | 1,64%                                   |
| Média  | 17.620       | 304.945         | 5,78%                                   | 4.985        | 299.365         | 1,67%                                   |

A Tabela 14 a seguir apresenta a projeção de número de casos de CCP em cada ano entre 2021 e 2038 encontrada para população brasileira, considerando que os percentuais da média de casos de câncer e CCP para a população masculina são, respectivamente, 0,30% e 5,78% e os percentuais da média de casos de câncer e CCP para a população feminina são, respectivamente, 0,28% e 1,67%.

Tabela 14: Projeção de CCP na população brasileira

| Ano  | Projeção masculina da População IBGE | Projeção masculina casos de Câncer | Projeção masculina de casos de CCP | Projeção feminina da População IBGE | Projeção feminina casos de Câncer | Projeção feminina de casos de CCP | Projeção total casos de CCP |
|------|--------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| 2021 | 104271843,00                         | 309463,3                           | 17881,07                           | 109045796,00                        | 304020,8                          | 5062,53                           | 22944                       |
| 2022 | 104990487,00                         | 311596,1                           | 18004,31                           | 109838053,00                        | 306229,6                          | 5099,31                           | 23104                       |
| 2023 | 105681529,00                         | 313647                             | 18122,81                           | 110602740,00                        | 308361,6                          | 5134,81                           | 23258                       |
| 2024 | 106345043,00                         | 315616,2                           | 18236,59                           | 111339419,00                        | 310415,4                          | 5169,01                           | 23406                       |
| 2025 | 106981304,00                         | 317504,6                           | 18345,70                           | 112047789,00                        | 312390,4                          | 5201,90                           | 23548                       |
| 2026 | 107589495,00                         | 319309,6                           | 18450,00                           | 112727035,00                        | 314284,1                          | 5233,43                           | 23683                       |
| 2027 | 108168830,00                         | 321029                             | 18549,35                           | 113376404,00                        | 316094,6                          | 5263,58                           | 23813                       |
| 2028 | 108718587,00                         | 322660,6                           | 18643,62                           | 113995082,00                        | 317819,4                          | 5292,30                           | 23936                       |
| 2029 | 109238514,00                         | 324203,6                           | 18732,78                           | 114582791,00                        | 319458                            | 5319,59                           | 24052                       |
| 2030 | 109728762,00                         | 325658,6                           | 18816,85                           | 115139700,00                        | 321010,7                          | 5345,44                           | 24162                       |
| 2031 | 110189007,00                         | 327024,6                           | 18895,78                           | 115665408,00                        | 322476,3                          | 5369,85                           | 24266                       |
| 2032 | 110618592,00                         | 328299,5                           | 18969,44                           | 116159210,00                        | 323853,1                          | 5392,77                           | 24362                       |
| 2033 | 111017537,00                         | 329483,5                           | 19037,86                           | 116621044,00                        | 325140,7                          | 5414,21                           | 24452                       |
| 2034 | 111386062,00                         | 330577,2                           | 19101,05                           | 117051060,00                        | 326339,5                          | 5434,18                           | 24535                       |
| 2035 | 111724392,00                         | 331581,3                           | 19159,07                           | 117449293,00                        | 327449,8                          | 5452,67                           | 24612                       |
| 2036 | 112032426,00                         | 332495,5                           | 19211,90                           | 117815406,00                        | 328470,5                          | 5469,66                           | 24682                       |
| 2037 | 112309958,00                         | 333319,2                           | 19259,49                           | 118149104,00                        | 329400,9                          | 5485,16                           | 24745                       |
| 2038 | 112557327,00                         | 334053,4                           | 19301,91                           | 118450544,00                        | 330241,3                          | 5499,15                           | 24801                       |

Para esta indicação, não há incorporação no SUS do Pembrolizumab. Entretanto, pela Anvisa, é indicado para o tratamento de primeira linha de carcinoma de células escamosas de

cabeça e pescoço (HNSCC) metastático, irressecável ou recorrente em combinação com quimioterapia a base de platina e 5-FU. Também indicado em monoterapia em pacientes que estejam em estágio metastático, irressecável ou recorrente com presença positiva de expressão de PD-L1.

O HNSCC representa cerca de 90% dos casos de câncer de cabeça e pescoço (SCUTTI *et al.*, 2016), destes cerca de 5% representam pacientes que terão a doença metastática no momento do diagnóstico (CHEN e VOKES, 2008). Além disso, conforme informado anteriormente, os pacientes devem ser selecionados para o tratamento com base na presença positiva de expressão de PD-L1 que para HNSCC em geral representa uma porcentagem de 33% (SCHENEIDER *et al.*, 2018).

Portanto, a partir da projeção da casos de CCP para os próximos 18 anos obtida, 90% representam o número de casos de HNSCC da população, dos quais 5% representam os casos metastáticos e 33% apresentam presença positiva de expressão de PD-L1.

A partir da posologia indicada nos ciclos anuais de tratamento<sup>11</sup>, é obtida a massa total a ser produzida deste anticorpo monoclonal para esta indicação terapêutica.

Dessa forma, a Tabela 15 apresenta o total demandado de Pembrolizumab entre os anos de 2021 e 2038 para esta indicação terapêutica.

---

<sup>11</sup> Para HNSCC, o ciclo de tratamento é anual, correspondendo a uma infusão de 200 mg tanto em monoterapia como em combinação a ser repetida a cada 3 semanas. Portanto, por paciente são 3400 mg de pembrolizumab no ano.

Tabela 15: Produção necessária para atender a demanda dos casos de HNSCC

| Ano  | Casos Totais | Casos tratados no SUS | Total de Pembrolizumab (kg/ano) |
|------|--------------|-----------------------|---------------------------------|
| 2021 | 31200        | 463                   | 1,58                            |
| 2022 | 31419        | 467                   | 1,59                            |
| 2023 | 31631        | 470                   | 1,60                            |
| 2024 | 31835        | 473                   | 1,61                            |
| 2025 | 32030        | 476                   | 1,62                            |
| 2026 | 32217        | 478                   | 1,63                            |
| 2027 | 32395        | 481                   | 1,64                            |
| 2028 | 32565        | 484                   | 1,64                            |
| 2029 | 32726        | 486                   | 1,65                            |
| 2030 | 32877        | 488                   | 1,66                            |
| 2031 | 33020        | 490                   | 1,67                            |
| 2032 | 33154        | 492                   | 1,67                            |
| 2033 | 33279        | 494                   | 1,68                            |
| 2034 | 33394        | 496                   | 1,69                            |
| 2035 | 33500        | 497                   | 1,69                            |
| 2036 | 33598        | 499                   | 1,70                            |
| 2037 | 33686        | 500                   | 1,70                            |
| 2038 | 33765        | 501                   | 1,70                            |

### 3.4 Carcinoma urotelial (UC)

A Tabela 16 apresenta os resultados encontrados de % de casos de câncer de bexiga (CB) para a população masculina e feminina brasileira.

Tabela 16: Histórico da ocorrência de CB em homens e mulheres.

| HOMENS |             |                 |  | MULHERES    |                 |  |
|--------|-------------|-----------------|--|-------------|-----------------|--|
| Ano    | Casos de CB | Casos de Câncer | % casos de CB dentre todos os cânceres | Casos de CB | Casos de Câncer | % casos de CB dentre todos os cânceres |
| 2018   | 6.690       | 300.140         | 2,23%                                  | 2.790       | 282.450         | 0,99%                                  |
| 2020   | 7.590       | 309.750         | 2,45%                                  | 3.050       | 316.280         | 0,96%                                  |
| Média  | 7.140       | 304.945         | 2,34%                                  | 2.920       | 299.365         | 0,98%                                  |

A Tabela 17 a seguir apresenta a projeção de número de casos de CB em cada ano entre 2021 e 2038 encontrada para população brasileira, considerando que os percentuais da média de casos de câncer e CB para a população masculina são, respectivamente, 0,30% e

2,34% e os percentuais da média de casos de câncer e CB para a população feminina são, respectivamente, 0,28% e 0,98%.

Tabela 17: Projeção de CB na população brasileira

| Ano  | Projeção masculina da População IBGE | Projeção masculina casos de Câncer | Projeção masculina de casos de CB | Projeção feminina da População IBGE | Projeção feminina casos de Câncer | Projeção feminina de casos de CB | Projeção total casos de CB |
|------|--------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------|
| 2021 | 104271843,00                         | 309463,3                           | 7245,79                           | 109045796,00                        | 304020,8                          | 2965,41                          | 10211                      |
| 2022 | 104990487,00                         | 311596,1                           | 7295,73                           | 109838053,00                        | 306229,6                          | 2986,96                          | 10283                      |
| 2023 | 105681529,00                         | 313647                             | 7343,75                           | 110602740,00                        | 308361,6                          | 3007,75                          | 10352                      |
| 2024 | 106345043,00                         | 315616,2                           | 7389,86                           | 111339419,00                        | 310415,4                          | 3027,79                          | 10418                      |
| 2025 | 106981304,00                         | 317504,6                           | 7434,07                           | 112047789,00                        | 312390,4                          | 3047,05                          | 10481                      |
| 2026 | 107589495,00                         | 319309,6                           | 7476,33                           | 112727035,00                        | 314284,1                          | 3065,52                          | 10542                      |
| 2027 | 108168830,00                         | 321029                             | 7516,59                           | 113376404,00                        | 316094,6                          | 3083,18                          | 10600                      |
| 2028 | 108718587,00                         | 322660,6                           | 7554,79                           | 113995082,00                        | 317819,4                          | 3100,00                          | 10655                      |
| 2029 | 109238514,00                         | 324203,6                           | 7590,92                           | 114582791,00                        | 319458                            | 3115,99                          | 10707                      |
| 2030 | 109728762,00                         | 325658,6                           | 7624,99                           | 115139700,00                        | 321010,7                          | 3131,13                          | 10756                      |
| 2031 | 110189007,00                         | 327024,6                           | 7656,97                           | 115665408,00                        | 322476,3                          | 3145,43                          | 10802                      |
| 2032 | 110618592,00                         | 328299,5                           | 7686,82                           | 116159210,00                        | 323853,1                          | 3158,86                          | 10846                      |
| 2033 | 111017537,00                         | 329483,5                           | 7714,55                           | 116621044,00                        | 325140,7                          | 3171,42                          | 10886                      |
| 2034 | 111386062,00                         | 330577,2                           | 7740,15                           | 117051060,00                        | 326339,5                          | 3183,11                          | 10923                      |
| 2035 | 111724392,00                         | 331581,3                           | 7763,66                           | 117449293,00                        | 327449,8                          | 3193,94                          | 10958                      |
| 2036 | 112032426,00                         | 332495,5                           | 7785,07                           | 117815406,00                        | 328470,5                          | 3203,89                          | 10989                      |
| 2037 | 112309958,00                         | 333319,2                           | 7804,36                           | 118149104,00                        | 329400,9                          | 3212,97                          | 11017                      |
| 2038 | 112557327,00                         | 334053,4                           | 7821,55                           | 118450544,00                        | 330241,3                          | 3221,17                          | 11043                      |

Para esta indicação, não há incorporação no SUS do Pembrolizumab. Entretanto, pela Anvisa, é indicado para o tratamento de segunda linha de carcinoma urotelial (UC) localmente avançado ou metastático após falha da quimioterapia à base de platina ou não elegíveis à quimioterapia à base de cisplatina com presença positiva de expressão de PD-L1.

O carcinoma urotelial é responsável por cerca de 90% de todos os casos de câncer de bexiga. Segundo o diretor da SBOC, em torno de 20% a 30% dos pacientes chegam ao estágio metastático da doença e estariam aptos a receber o Pembrolizumab na segunda linha (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ONCOLOGIA CLÍNICA, 2017). Além disso, conforme informado anteriormente, os pacientes devem ser selecionados para o tratamento com base na presença positiva de expressão de PD-L1 que para UC em geral representa uma porcentagem de 28% (GULINAC *et al.*, 2020).

Portanto, a partir da projeção da casos de CB para os próximos 18 anos obtida, 90% representam o número de casos de UC da população, dos quais 25% representam os casos metastáticos aptos a receber o tratamento com o Pembrolizumab e 28% apresentam presença positiva de expressão de PD-L1.

A partir da posologia indicada nos ciclos anuais de tratamento<sup>12</sup>, é obtida a massa total a ser produzida deste anticorpo monoclonal para esta indicação terapêutica.

Dessa forma, a Tabela 18 apresenta o total demandado de Pembrolizumab entre os anos de 2021 e 2038 para esta indicação terapêutica.

Tabela 18: Produção necessária para atender a demanda dos casos de UC.

| Ano  | Casos Totais | Casos tratados no SUS | Total de Pembrolizumab (kg/ano) |
|------|--------------|-----------------------|---------------------------------|
| 2021 | 10211        | 643                   | 2,19                            |
| 2022 | 10283        | 648                   | 2,20                            |
| 2023 | 10352        | 652                   | 2,22                            |
| 2024 | 10418        | 656                   | 2,23                            |
| 2025 | 10481        | 660                   | 2,25                            |
| 2026 | 10542        | 664                   | 2,26                            |
| 2027 | 10600        | 668                   | 2,27                            |
| 2028 | 10655        | 671                   | 2,28                            |
| 2029 | 10707        | 675                   | 2,29                            |
| 2030 | 10756        | 678                   | 2,30                            |
| 2031 | 10802        | 681                   | 2,31                            |
| 2032 | 10846        | 683                   | 2,32                            |
| 2033 | 10886        | 686                   | 2,33                            |
| 2034 | 10923        | 688                   | 2,34                            |
| 2035 | 10958        | 690                   | 2,35                            |
| 2036 | 10989        | 692                   | 2,35                            |
| 2037 | 11017        | 694                   | 2,36                            |
| 2038 | 11043        | 696                   | 2,37                            |

### 3.5 Projeção da demanda total de Pembrolizumab

A projeção da massa total a ser produzida anualmente é apresentada na Tabela 19, com base nos resultados encontrados da massa necessária para atender à demanda das quatro indicações terapêuticas.

<sup>12</sup> Para UC, o ciclo de tratamento é anual, correspondendo a uma infusão de 200 mg a ser repetida a cada 3 semanas. Portanto, por paciente são 3400 mg de pembrolizumab no ano.

Tabela 19: Massa total a ser produzida anualmente de Pembrolizumab

| Ano  | Massa para<br>Melanoma<br>(kg) | Massa para<br>CPNPC (kg) | Massa para<br>HNSCC (kg) | Massa para<br>UC (kg) | Massa<br>Total (kg) |
|------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------|---------------------|
| 2021 | 4,38                           | 6,96                     | 1,58                     | 2,19                  | 15,11               |
| 2022 | 4,41                           | 7,01                     | 1,59                     | 2,20                  | 15,21               |
| 2023 | 4,44                           | 7,06                     | 1,60                     | 2,22                  | 15,32               |
| 2024 | 4,46                           | 7,10                     | 1,61                     | 2,23                  | 15,40               |
| 2025 | 4,49                           | 7,15                     | 1,62                     | 2,25                  | 15,51               |
| 2026 | 4,52                           | 7,19                     | 1,63                     | 2,26                  | 15,60               |
| 2027 | 4,54                           | 7,23                     | 1,64                     | 2,27                  | 15,68               |
| 2028 | 4,57                           | 7,27                     | 1,64                     | 2,28                  | 15,76               |
| 2029 | 4,59                           | 7,30                     | 1,65                     | 2,29                  | 15,83               |
| 2030 | 4,61                           | 7,34                     | 1,66                     | 2,30                  | 15,91               |
| 2031 | 4,63                           | 7,37                     | 1,67                     | 2,31                  | 15,98               |
| 2032 | 4,65                           | 7,40                     | 1,67                     | 2,32                  | 16,04               |
| 2033 | 4,67                           | 7,42                     | 1,68                     | 2,33                  | 16,10               |
| 2034 | 4,69                           | 7,45                     | 1,69                     | 2,34                  | 16,17               |
| 2035 | 4,70                           | 7,47                     | 1,69                     | 2,35                  | 16,21               |
| 2036 | 4,71                           | 7,50                     | 1,70                     | 2,35                  | 16,26               |
| 2037 | 4,73                           | 7,52                     | 1,70                     | 2,36                  | 16,31               |
| 2038 | 4,74                           | 7,53                     | 1,70                     | 2,37                  | 16,34               |

Portanto, a capacidade da planta foi estimada em 17 kg para o completo atendimento à demanda nos próximos 18 anos, ou seja, utilizando-se como parâmetro a demanda para o ano de 2038.



#### 4. FLUXOGRAMA DO PROCESSO E DIMENSIONAMENTO DOS EQUIPAMENTOS

Neste capítulo será proposto o fluxograma do processo de produção do Pembrolizumab, contemplando as principais etapas de forma a possibilitar o projeto da planta, incluindo o dimensionamento dos equipamentos envolvidos em cada etapa.

A Figura 11 ilustra o esquema proposto para as etapas da produção, baseando-se nas informações contidas no Capítulo 2, em diferentes referências, como o relatório de avaliação do medicamento de referência da EMA (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2020); o relatório operacional da MSD Ireland (MSD IRELAND, 2019) e um trabalho de conclusão de curso que trata de um projeto de planta de produção de Pembrolizumab na Irlanda (ABT *et al.*, 2020).

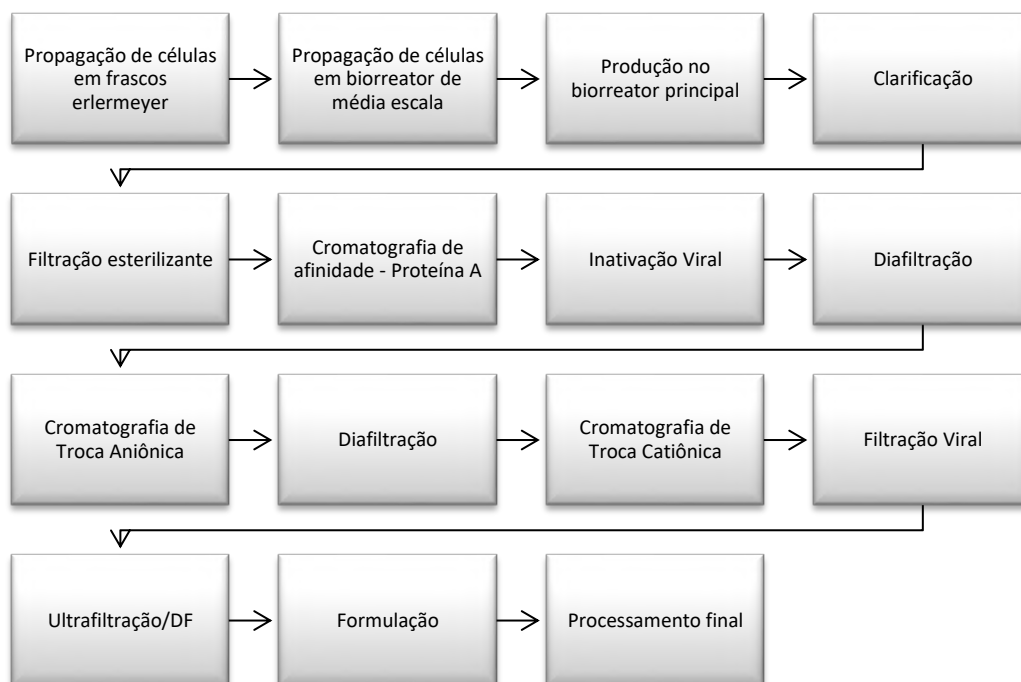


Figura 11: Fluxograma do processo produtivo para produção de Pembrolizumab. Adaptado de ABT *et al.*, 2020

O processo produtivo proposto é um típico processo para obtenção de um biofármaco seguro e eficaz. O ciclo de produção inicia-se com o descongelamento de um criotubo contendo células CHO (*Chinese Hamster Ovary* – Ovário de hamster chinês) geneticamente modificadas para produção do anticorpo monoclonal Pembrolizumab proveniente de um banco celular de trabalho (BCT), o qual é estabelecido a partir de um banco de células mestre (BCM).

O BCM é definido como alíquotas contendo pool homogêneo de células, geralmente preparado a partir do clone celular selecionado sob condições definidas, dispensadas em múltiplos recipientes e armazenado em condições definidas (ANVISA, 2019). A partir de uma alíquota do BMC, após cultivo sob condições pré-definidas, são obtidas novas alíquotas com volumes iguais para a armazenagem, estabelecendo assim o BCT. Cada alíquota do BCT deverá ser armazenada de forma a garantir sua estabilidade e prontidão para o uso como ponto de partida em uma futura produção industrial (BRETAS, 2011).

Após o descongelamento das células contidas no criotubo e sua sucessiva passagem para o meio de cultura adequado, ocorre a propagação e expansão dessas células até que seja obtida a concentração ideal de inóculo para dar início à fermentação final. Portanto, são inoculadas inicialmente em frascos erlenmeyer; em seguida em um biorreator dito “de propagação” e, finalmente, no biorreator principal, que será operado em perfusão para formação do produto desejado.

O modo de condução proposto para o processo foi o modo contínuo com reciclo de células, também conhecido como perfusão. Este modo tem sido cada vez mais utilizado pelas empresas biofarmacêuticas produtoras de proteínas terapêuticas, devido a suas inúmeras vantagens. Os avanços na tecnologia de uso único, o desenvolvimento de dispositivos de retenção de células mais adequados, além da alta produtividade volumétrica atingida, foram decisivos para adoção frequente deste modo de produção na atualidade (BETTINARDI *et al.*, 2020).

Após a etapa do cultivo celular (*upstream*), é realizada a separação das células da suspensão vinda do biorreator principal através do processo de clarificação, cujo objetivo final é a obtenção do meio reacional livre de células vindo da corrente do permeado.

O permeado obtido na etapa de clarificação será então direcionado para etapas posteriores de purificação do produto (*downstream*), a qual inicia-se com uma filtração esterilizante seguida da cromatografia de afinidade por proteína A, uma etapa altamente específica, com bom rendimento, em que o anticorpo se liga à proteína A imobilizada numa resina específica para cromatografias de anticorpos monoclonais.

Em seguida, a solução passa pela etapa de inativação viral, através do tratamento com pH ácido, que tem o objetivo de desnaturar as proteínas de vírus envelopados que possam

estar presentes na solução. Ao final desta etapa, ocorre uma diafiltração (DF) para troca da solução tampão em que o produto de interesse está suspenso para a etapa subsequente.

A etapa subsequente é a cromatografia de troca aniônica, seguida por outra diafiltração e pela cromatografia de troca catiônica. Na aniônica, utiliza-se a resina CaptoQ, com a finalidade de remover contaminantes carregados negativamente como DNA, proteínas de células hospedeiras e endotoxinas. Quanto à troca catiônica, utiliza-se a resina CaptoS, que tem a finalidade de eliminar contaminantes carregados positivamente que frequentemente incluem proteínas da célula hospedeira (HCPs), resina de proteína A lixiviada e agregados de resíduos.

Após estas etapas, é realizada uma etapa de filtração viral com posterior concentração do produto através da ultrafiltração/diafiltração, havendo a troca do tampão de purificação pelo de formulação. A solução com o produto purificado será então enviada para o tanque de formulação, em que serão adicionados os excipientes sacarose, L-histidina e polissorbato 80. Dessa forma, será obtida a solução final com Pembrolizumab que seguirá para a linha de envase, rotulagem e embalagem.

Destaca-se que cada etapa do processo de produção apresentada deve ser bem caracterizada e validada, de modo a garantir a qualidade e reprodutibilidade da produção sob as Boas Práticas de Fabricação (BPF), essenciais para obtenção de um produto seguro, eficaz e dentro dos padrões de qualidade estabelecidos pelas agências regulatórias. Além disso, o processo de produção proposto levará ainda em consideração sempre que possível a utilização da tecnologia *single-use* nos equipamentos, tendência do setor de produção de produtos biológicos.

A seguir, será discutido com mais detalhes cada etapa do processo produtivo, apresentando o dimensionamento de seus equipamentos.

#### **4.1 Upstream**

No processo de produção proposto, o *upstream* abrange as etapas de propagação celular, cultivo no biorreator principal e o equipamento de retenção celular. Ao final, é obtido o produto de interesse misturado com possíveis contaminantes que serão posteriormente separados no *downstream* para obtenção da proteína de interesse purificada.

#### **4.1.1 Biorreator principal**

O dimensionamento do biorreator principal será obtido através das informações de demanda anual estimada, rendimento das etapas subsequentes e os tempos de operação da planta e de cada ciclo de produção. A partir do volume de trabalho do biorreator principal obtido, todos os outros equipamentos da linha de produção do biofármaco poderão ser dimensionados.

O sistema proposto será um biorreator do tipo tanque agitado descartável operando em modo de perfusão. Para células cultivadas em suspensão, como no caso do presente projeto, os biorreatores do tipo tanque agitado são os mais utilizados em processos industriais, pois são capazes de proporcionar um ambiente físico-químico homogêneo para todas as células, além de apresentarem características que facilitam o cultivo de células animais, como fácil monitoramento e operação, boa transferência de gases, etc (WARNOCK e AL-RUBEAI, 2006).

De acordo com o Capítulo 3, a estimativa considerada da demanda anual de Pembrolizumab será de 17 kg, sendo este valor utilizado como base da escala de produção para a projeção. Entretanto, para que se consiga alcançar esse valor, o reator necessita produzir uma quantidade maior para compensar a perda de produto durante as etapas de purificação do processo.

As etapas do fluxo produtivo de purificação possuem diferentes rendimentos, como observado na Tabela 20, chegando-se ao rendimento global de 66,2%. Sendo assim, a massa total a ser produzida calculada será de 25,68 kg/ano.

Tabela 20: Rendimentos de cada etapa do processo produtivo e o rendimento global

| Rendimentos por etapa (%)               |             | Referência                                 |
|---|-------------|--|
| Clarificação                            | 95          | SILVEIRA <i>et al.</i> , 2005; SILVA, 2020 |
| Filtração esterilizante                 | 95          | SILVEIRA <i>et al.</i> , 2005              |
| Cromatografia de afinidade – Proteína A | 90,3        | ABT <i>et al.</i> , 2020                   |
| Inativação Viral                        | 95          | OLIVEIRA, 2016                             |
| Diafiltração                            | 99,9        | Dado do fabricante (PALL, 2021)            |
| Cromatografia de Troca Aniônica         | 98          | ABT <i>et al.</i> , 2020                   |
| Diafiltração                            | 99,9        | Dado do fabricante (PALL, 2021)            |
| Cromatografia de Troca Catiônica        | 93          | ABT <i>et al.</i> , 2020                   |
| Filtração Viral                         | 99          | Dado do fabricante (SARTORIUS, 2019)       |
| UF/DF                                   | 95          | OLIVEIRA, 2016                             |
| Formulação                              | 100         | MIRANDA, 2016; ABT <i>et al.</i> , 2020    |
| <b>Rendimento Global</b>                | <b>66,2</b> |  |

Adicionalmente a este valor, é realizado o produto dessa demanda pelo fator de segurança, considerado para este trabalho de 1,20 (SILVA, 2020), para cobrir eventuais perdas causadas pela não conformidade do processo ou produto à parâmetros BPF, resultando em uma massa de 30,82 kg.

Considerando que o tempo de operação de uma corrida, o tempo de preparo deste biorreator e o tempo anual de operação da planta são, respectivamente, 21 dias, 3 dias e 330 dias (BETTINARDI *et al.*, 2020; SILVA, 2020), são possíveis ao todo 13 corridas por ano, sendo que para cada uma delas é necessária a produção de aproximadamente 2,37 kg de produto bruto.

Para o dimensionamento final do biorreator de produção utilizaram-se as seguintes equações:

$$Produtividade\ volumétrica = q_p \times X_v$$

Onde  $q_p$  e  $X_v$  são respectivamente a taxa específica de produção do produto e a densidade celular no reator.

$$= \frac{\text{Massa por corrida}}{\text{Produtividade} \times (\text{Tempo de Corrida} + \text{Tempo de preparo do biorreator})}$$

A partir das premissas apresentadas na Tabela 21, obteve-se o volume de trabalho do biorreator principal de 197,5 L. Entretanto, considerando que o volume útil do biorreator deve ser de aproximadamente 80%, o volume nominal adequado do biorreator principal seria de 246,9 L. Os fabricantes de biorreatores *single-use* disponíveis no mercado apresentam para esta faixa de volume a ser trabalhado apenas biorreatores de 200L, 250L e 500L. Os dois primeiros volumes disponíveis estariam fora do volume nominal adequado de trabalho e a última opção disponível muito acima. Entretanto, considerando que a demanda calculada para produção de Pembrolizumab foi realizada de forma conservadora, idealizando um aumento de escala da produção no futuro, escolheu-se o biorreator principal de volume nominal de 500 L. O modelo escolhido foi o Xcellerex™ XDR-500 da GE Healthcare.

Tabela 21: Parâmetros utilizados no cálculo do dimensionamento do biorreator principal.

| Parâmetros utilizados                            |                     |  |
|--|---------------------|--|
| Processo Perfusão                                | Valores             | Referência   |
| Densidade celular ( $X_v$ )                      | 5,00E+07 cel/mL     | BETTINARDI <i>et al.</i> , 2020                          |
| Taxa específica de produção do produto ( $q_p$ ) | 10 pcd (pg/cel*dia) | OLIVEIRA, 2016; ZHAO <i>et al.</i> , 2018; CORVEN, 2019; |
| Tempo de corrida                                 | 21 dias             | SILVA, 2020  |
| Tempo de preparo do biorreator                   | 3 dias              | BETTINARDI <i>et al.</i> , 2020                          |

No decorrer do processo de operação, alguns parâmetros do sistema de cultivo, como pH, oxigênio dissolvido, osmolaridade, velocidade de agitação, temperatura, são monitorados e controlados de forma a promover um ambiente otimizado para garantia do crescimento celular e obtenção do produto de interesse, através de sensores e malhas de controle (CHICO, RODRÍGUEZ e FIGUEREDO, 2008).

No modo de perfusão, o meio de cultivo deve ser removido e alimentado do biorreator continuamente. Dessa forma, é necessário um cuidado prévio com os tanques de alimentação de meio de cultivo do biorreator, de forma a evitar que problemas no preparo ou armazenamento do meio de cultivo possam interromper o processo produtivo. Portanto, adotou-se um esquema de tanques, tendo 2 tanques de preparo de meio e 2 tanques de armazenamento desse meio. Para obter-se a quantidade de meio de cultivo necessária por corrida, foi proposto para este trabalho dividir-se a mesma em quatro momentos, os quais

possuem taxas de troca de meio diferentes e calculou-se o volume necessário para cada um desses momentos, somando-os ao final.

Do dia 0 ao dia 2, a taxa de troca de meio é de 0,3 volumes de reator por dia (vvd). Do dia 3 ao dia 5, a taxa de troca de meio é de 0,5 vvd. Do dia 6 ao dia 8, a taxa é de 1,0 vvd. E do dia 9 ao dia 21, a taxa de troca de meio é de 1,5 vvd. Multiplicando-se a taxa de troca de meio de cultivo utilizada em cada momento pelo número de dias e o volume de trabalho do biorreator, obteve-se o volume total de meio necessário de 4858,5 L/corrída.

#### **4.1.2 Dispositivo de retenção celular**

O dispositivo de retenção celular é a peça-chave do biorreator principal de perfusão, o qual foi escolhido para operar com taxa de troca de meio máxima de 1,5 vvd, que resulta em uma vazão máxima de 296,3 L/dia. O equipamento escolhido para esse caso foi o hidrociclone dada a sua simplicidade, confiabilidade e capacidade de operar a essa taxa de perfusão (BETTINARDI et al., 2020).

O hidrociclone (ou a bateria deles, se necessário mais de um hidrociclone) estará conectado externamente ao biorreator principal para retenção de células. Estas são concentradas na corrente de saída de underflow e recirculadas para o biorreator. A corrente de saída de overflow, que contém o produto de interesse e é praticamente isenta de células, é encaminhada para um tanque de equalização para depois seguir para etapas do *downstream*. A Figura 12 representa um desenho esquemático do sistema proposto.

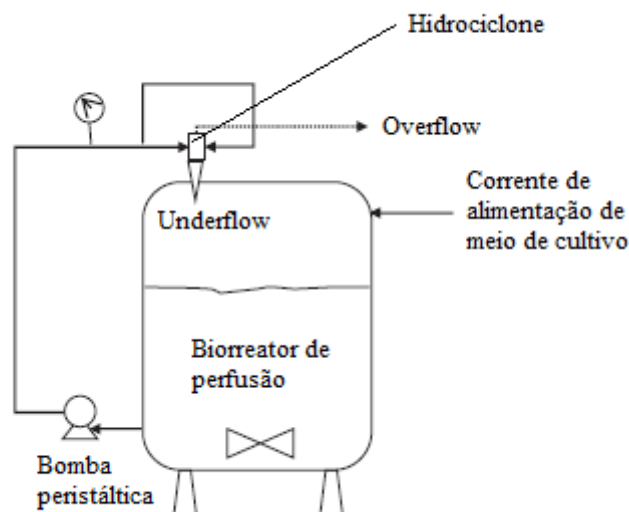


Figura 12: Desenho esquemático para processo produtivo no biorreator principal. Adaptado de BETTINARDI *et al.*, 2020

Foi escolhido o hidrociclone identificado no trabalho de Bettinardi (2020) como HC2015, cuja configuração é mostrada na Tabela 22.

Tabela 22: Caracterização da Configuração do Hidrociclone HC2015 numa perfusão de 20 dias com  $\Delta p$  operacional de 1,0-1,5 bar até o dia 8 e, em seguida, aumentado para 2,0-2,5 bar

| Parâmetro   | Valor |
|---|-------|
| Vazão de alimentação ( $Q_f$ ) (L/min)                | 1,6   |
| Vazão de <i>overflow</i> ( $Q_{of}$ ) (L/min)         | 0,3   |
| Razão de fluido ( $R_f$ ) ( $R_f = 1 - (Q_o/Q)$ ) (%) | 81,2  |
| Eficiência total ( $E$ ) (%)                          | 95    |
| Eficiência total reduzida ( $E'$ ) (%)                | 75    |
| Diâmetro do corpo ( $D_c$ ) (mm)                      | 10    |
| Diâmetro do <i>underflow</i> ( $D_u$ ) (mm)           | 2     |
| Diâmetro do <i>overflow</i> ( $D_o$ ) (mm)            | 1,5   |

Para cálculo do número de hidrociclones necessários ao processo, é preciso levar em consideração que a vazão total de operação do overflow ( $Q_{To}$ ) é de 296,3 L/dia ou 0,21 L/min. O número necessário de hidrociclones é calculado dividindo-se a vazão total de operação ( $Q_{To}$ ) pela vazão de overflow de um hidrociclone ( $Q_o$ ). Como mostra a Tabela 22, a vazão de overflow de HC2015 é de 0,30 L/min, que é menor que a vazão de overflow necessária ao processo. Sendo assim, será necessário somente um hidrociclone.



#### **4.1.3 Bolsa de equalização (1)**

Esta bolsa estará localizada após a etapa de retenção celular e tem como objetivo principal armazenar a suspensão diluída (*overflow*) enquanto as etapas seguintes de *downstream* estão processando o volume de material enviado anteriormente.

Esse tipo de bolsa estará distribuído ao longo de todo o processo produtivo tendo também como objetivo de equalizar a vazão entre as etapas produtivas, visto que tais não funcionam com a mesma vazão. Além de funcionarem como dispositivos de segurança, caso aconteça algum problema durante a produção.

Essa primeira bolsa deve ter capacidade de armazenar todo o volume produzido pelo biorreator principal em um dia. Portanto, como a taxa de perfusão máxima é 1,5 vvd; o volume mínimo dessa bolsa deve ser 296,3 L. Adicionando o fator de segurança de 1,20 chega-se a um volume útil de trabalho de 355,6 L.

#### **4.1.4 Biorreator e frascos erlenmeyer para propagação do inóculo**

A etapa inicial de propagação celular é fundamental para a produção de um biofármaco e tem por objetivo garantir que as células estejam em uma concentração e volume suficientes para que o seu crescimento na etapa subsequente seja otimizado e a produção maximizada.

A propagação celular se inicia com o descongelamento das células, geralmente em um frasco com volume de trabalho de 1 mL provindo do BCT (banco celular de trabalho). Posteriormente, as células então são suspendidas em meio de cultura adequado e cultivadas para frascos com volumes gradativamente maiores, passando para biorreatores com volumes crescentes até que atinjam um volume suficiente para que o biorreator de trabalho seja inoculado. Classicamente, este processo de propagação é realizado em modo de operação batelada por questão de simplicidade.

No processo proposto, as células estão presentes no criotubo em uma quantidade de  $10^7$  células. Essas são suspendidas em meio de cultura fresco adequado a uma concentração de  $0,2 \times 10^6$  células/mL e são cultivadas até atingirem uma concentração de  $3,2 \times 10^6$  células/mL. Atingida esta concentração, essas células são levadas a um novo recipiente para ampliar seu volume, onde são inoculadas, novamente, a uma concentração de  $0,2 \times 10^6$  células/mL. Com base nesses valores, juntamente com o volume de trabalho do biorreator

principal já calculado (197,5 L), é possível calcular o volume de trabalho dos recipientes de propagação.

Portanto, definindo a concentração final de células em um reator N-1 e a concentração de inoculação do próximo reator (N), além do conhecimento do volume de trabalho do biorreator principal (iniciando o cálculo pelo biorreator principal), pode-se calcular a quantidade de células presentes no reator N durante a inoculação, que será a mesma quantidade presente no final da utilização do reator anterior. Repete-se o procedimento até que se atinja um recipiente com um volume tal que permita a passagem de células do criotubo para um novo recipiente. Os resultados dessa operação são apresentados na Tabela 23.

Tabela 23: Volumes dos recipientes utilizados na propagação do inóculo e concentrações de células inoculadas e no final de cada etapa de propagação.

| Recipiente                                      | Criotubo          | Frasco Erlenmeyer | Frasco Erlenmeyer | Biorreator de propagação | Biorreator principal |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------------|----------------------|
| Concentração final de células (células/mL)      | $1,0 \times 10^7$ | $3,2 \times 10^6$ | $3,2 \times 10^6$ | $3,2 \times 10^6$        | $5,0 \times 10^7$    |
| Concentração de células no inóculo (células/mL) | -                 | $0,2 \times 10^6$ | $0,2 \times 10^6$ | $0,2 \times 10^6$        | $0,2 \times 10^6$    |
| Volume de trabalho do recipiente (L)            | 0,001             | 0,05              | 0,77              | 12,3                     | 197,5                |
| Volume nominal do recipiente (L)                | 0,001             | 0,25              | 2,0               | 20,0                     | 500,0                |

## 4.2 Downstream

As etapas de *downstream* do processo são responsáveis pela purificação da suspensão diluída (*overflow*) após sua saída do hidrociclone, obtendo-se o produto de interesse com alta pureza. Cada biofármaco possui uma sequência ideal de equipamentos de purificação para obter-se maior rendimento e pureza no processo.

Como o processo de produção descrito é uma perfusão, diariamente a suspensão diluída (*overflow*) contendo o produto é coletada. Após a coleta, esse diluído, contendo uma concentração residual de células muito baixa, é submetido a uma etapa de clarificação antes de seguir para as etapas de captura e polimento do produto (sendo essas as etapas de cromatografia do processo). O processo ainda conta com uma filtração esterilizante,

inativação e filtração viral, garantindo ao produto uma alta pureza coincidente com os padrões estabelecidos pelas agências regulatórias.

#### **4.2.1 Clarificação**

A clarificação é a primeira etapa à qual o perfundido, contendo o produto de interesse, é submetido. O objetivo desta etapa é promover a retirada de debris celulares, células e outras partículas remanescentes contidas no perfundido e prepará-lo para as etapas de cromatografia, evitando a entrada de material particulado nas colunas cromatográficas.

No presente trabalho, optou-se pela utilização de um módulo de membranas de nitrocelulose combinadas com dois tamanhos de poro diferentes (0,65 e 0,45  $\mu\text{m}$ ) com área filtrante total de 0,6  $\text{m}^2$ . O filtro a ser utilizado é o Sartobran® P 0.45  $\mu\text{m}$  de 10" da empresa Sartorius.

#### **4.2.2 Filtração esterilizante**

O perfundido após clarificação e antes da entrada no sistema de cromatografia será submetido a uma filtração esterilizante com objetivo de garantir que nenhum debri ou célula esteja presente na solução.

No presente trabalho, optou-se pela utilização de um módulo de membranas combinadas com dois tamanhos de poro diferentes (0,22 e 0,1  $\mu\text{m}$ ) com área filtrante total de 0,8  $\text{m}^2$ . O módulo de membrana a ser utilizado é o Sartopore® 2 XLM de 10" da empresa Sartorius.

#### **4.2.3 Cromatografia de afinidade – Proteína A**

Nessa etapa da purificação, o perfundido clarificado é submetido a uma cromatografia de afinidade utilizando-se uma coluna com resina que contém proteína A, um forte e específico ligante do IgG do Pembrolizumab, que é então adsorvido e em seguida eluído seletivamente, resultando no rendimento de 90,3%.

Desse modo, a proteína A retém o produto de interesse enquanto outras substâncias como outras proteínas, vírus, DNA, meio de cultura, passam pela resina. A resina escolhida foi a ThermoFisher Science Poros MabCapture A Select, que possui capacidade de reter 40,5 g de mAb por litro de resina A em um tempo de residência desejado de 4 minutos (THERMOFISHER, 2019).

Para o dimensionamento do volume de resina necessário a essa etapa cromatográfica, deve-se considerar que a massa de produto alimentada na coluna é de 101,85 g e que a capacidade dinâmica da resina é de 40,5g/ L de resina. Dessa maneira, o volume operacional de resina, calculado pela equação abaixo é de 2,52 L, que com um fator de segurança de 1,20, visando compensar uma possível perda de eficiência com o tempo e/ou com o aumento de escala, resulta em um volume final de 3,024 L.

$$\text{Volume de resina (L)} = \frac{\text{Massa de produto alimentada (g)}}{\text{Capacidade dinâmica da resina } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right)}$$

Com o volume de resina de projeto é possível dimensionar o diâmetro, altura do leito e altura da coluna pelas fichas técnicas de colunas cromatográficas disponíveis no mercado. Para o dimensionamento realizado foi escolhida a coluna BPG 300/500, que tem 30 cm de diâmetro e 50 cm de altura. A altura do leito calculada foi de 4,28 cm, que está dentro da faixa admitida pela coluna (GE HEALTHCARE, 2016a). Escolhendo-se uma velocidade linear de fluxo de 300 cm/h e multiplicando-se pela área da seção reta da coluna ( $\pi D^2/4$ ), obtém-se a vazão de operação de 212,06 L/h.

O processo cromatográfico é dividido em diferentes etapas:

Carregamento da amostra – realizada com velocidade superficial apropriada com o objetivo de maximizar o rendimento do processo e minimizar o tempo de operação.

Lavagem – realizada com tampão de maior força iônica que o tampão de equilíbrio para que as proteínas menos fortemente ligadas à resina eluam antes da proteína de interesse.

Eluição – realizada com solução de força iônica determinada previamente, capaz de eluir a proteína de interesse.

Regeneração – tem o objetivo de eluir da resina substâncias que possam ter ficado ligadas nela após a eluição por aplicação de solução com alta força iônica.

Equilíbrio – tem o objetivo de ajustar o pH e/ou condutividade da coluna. A coluna é considerada em equilíbrio quando os valores de pH e condutividade não mais se alteraram.

Limpeza – tem o objetivo de remover substâncias que possam ter ficado mais fortemente ligadas à resina que não sejam eluídas com a regeneração.

Os tampões utilizados em cada uma dessas etapas e seus respectivos volumes necessários são apresentados na Tabela 24.

Tabela 24: Soluções tampão e volumes da coluna necessários a cada etapa do processo de cromatografia de afinidade.

| <b>Etapas</b> | <b>Tampão</b>                     | <b>Volume Necessário da Coluna</b> |
|---------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| Lavagem       | 20 mM bis Tris buffer (pH 5.8)    | 5 CV                               |
| Eluição       | 0,1 M Glycine-HCl Buffer (pH 3.0) | 6 CV                               |
| Regeneração   | 0,02 M ácido fosfórico (pH 2.05)  | 5 CV                               |
| Equilíbrio    | 20 mM bis Tris buffer (pH 5.8)    | 5 CV                               |
| Limpeza       | 0,1 M NaOH                        | 5 CV                               |

O tempo dispendido para cada etapa do processo cromatográfico é calculado dividindo-se o volume da etapa em questão pela vazão de trabalho, sendo apresentado na Tabela 25.

Tabela 25: Tempo de duração de cada etapa do processo de cromatografia de afinidade.

| <b>Etapas</b>         | <b>Volume (L)</b> | <b>Tempo de duração (h)</b> |
|-----------------------|-------------------|-----------------------------|
| Carregamento          | 296,3             | 1,40                        |
| Lavagem               | 15,12             | 0,071                       |
| Eluição               | 18,14             | 0,086                       |
| Regeneração           | 15,12             | 0,071                       |
| Equilíbrio            | 15,12             | 0,071                       |
| Limpeza               | 15,12             | 0,071                       |
| Tempo global do ciclo |                   | 1,77                        |

O sistema usado para essa e todas as etapas seguintes de cromatografia será o AKTApocess, projetado para processos de produção de biofármacos em larga escala.

Por fim, considerando que essa operação terá rendimento de 90,3 % (ABT *et al.*, 2020), vazão mássica foi reduzida de 101,85 g/dia para 91,97 g/dia.

#### **4.2.4 Inativação Viral**

O risco de contaminação viral é uma característica comum a todos os processos de produção de produtos biotecnológicos derivados de células animais, podendo ter origem na própria linhagem celular ou introduzidos ao longo do processo de produção (BRORSON *et al.*, 2003).

Portanto, para garantir a segurança do bioproduto, após etapa de cromatografia de afinidade por proteína A, a corrente de produto será submetida a etapa de inativação viral com

objetivo de conferir ao processo de purificação a capacidade de remover eventuais vírus adventícios que possam vir a contaminar o processo produtivo.

Neste presente trabalho, o método de pH ácido foi escolhido para esta etapa de inativação viral que após a cromatografia, a solução que foi eluída em um tampão de baixo pH passará para um tanque permanecendo sobre esta mesma condição por mais tempo para que os vírus envelopados sejam inativados.

O tempo necessário para realizar essa etapa será de aproximadamente 30 minutos. O volume de trabalho do tanque de inativação viral para receber o eluído da coluna de afinidade anterior é de 18,14 L, e devido à margem de segurança de 80%, o volume final de operação é de 22,7 L. Considerando o volume da mistura calculado, foi selecionado o tanque de mistura Mobius® MIX 50 L, da Merck, para esta etapa.

A essa etapa foi atribuído o rendimento de 95% (OLIVEIRA, 2016) de modo que a vazão mássica passa a ser 87,37 g/dia.

#### **4.2.5 Diafiltração (1)**

O módulo de diafiltração estará localizado após tanque de inativação viral e tem como objetivo realizar a troca de solventes. O solvente oriundo da etapa de inativação viral será substituído pelo tampão de equilíbrio da etapa cromatográfica subsequente.

O tanque de dialisante foi projetado para armazenar o volume de solução dialisante necessário para a troca de tampão. A solução armazenada neste tanque será a mesma do tampão a ser utilizado na etapa de equilíbrio da cromatografia de troca aniônica, sendo sua composição 20 mM de bis Tris, com pH igual a 5,8.

Para a diafiltração ser completa atingindo 99,9% de pureza, a mesma será realizada a volume constante com troca de volume igual a 7 vezes do volume da solução oriunda do tanque de inativação viral. Como visto no dimensionamento anterior, seu volume é de 18,14 L, sendo o volume de solução dialisante necessária para troca de tampão de 126,98 L. Utilizando uma porcentagem máxima do tanque de 90% por este não ter agitação, o volume de projeto do tanque de dialisante será de 140,9 L.

Como o volume de solução dialisante é de 126,98 L e vazão com que deixa o tanque é de 37,72 L/h, o tempo de operação desta etapa será de 3,4 horas.

O equipamento a ser usado é o módulo de filtração tangencial Cadence™ Inline Diafiltration Module da empresa Pall, equipado com 12 cassetes de filtro Pall Delta 30 kDa de 93 cm<sup>2</sup> com uma área total de filtração de 0,1 m<sup>2</sup>. A cada corrida deverá ser realizada troca dos filtros.

#### **4.2.6 Bolsa de equalização (2)**

A segunda bolsa de equalização será projetada para armazenar todo o volume de concentrado proveniente da primeira etapa de diafiltração. Sendo assim, seu volume operacional é de 18,14 L e, devido ao fator de segurança de 1,20, o volume útil de operação é de 21,8 L.

#### **4.2.7 Cromatografia de troca aniônica**

A coluna de troca aniônica estará localizada após a etapa de diafiltração. Nesta etapa, a matriz sólida é carregada positivamente atraindo e retendo contaminantes existentes carregados negativamente, como DNA, proteínas de células hospedeiras e endotoxinas, enquanto a proteína de interesse que possui carga líquida positiva flui pela coluna.

Sabe-se que quando o pH do tampão está acima do pI, a proteína terá uma carga líquida negativa, e quando o pH da proteína está abaixo do pI, a proteína terá uma carga líquida positiva. O Pembrolizumab possui um ponto isoeletrico (pI) entre 6,8-6,9 e os contaminantes presentes neste estágio de purificação apresentam baixos pI's. Portanto, os contaminantes se ligarão à resina aniônica no pH operacional escolhido de 5,8 e a solução com Pembrolizumab fluirá pela coluna, resultando no rendimento de 98%.

A resina escolhida será a Resina Capto Q da GE Healthcare. Para o dimensionamento do volume de resina necessário a essa etapa cromatográfica, deve-se considerar que a massa de produto alimentada na coluna é de 87,28 g e que a capacidade dinâmica da resina é de 124 g/ L (ABT *et al.*, 2020). Dessa maneira, o volume operacional de resina é de 0,704 L, que com um fator de segurança de 1,20, resulta em um volume final de 0,85 L.

Com o volume de resina de projeto, é possível dimensionar o diâmetro, altura do leito e altura da coluna pelas fichas técnicas de colunas cromatográficas disponíveis no mercado. Para o dimensionamento realizado foi escolhida a coluna BPG 100/500, que tem 10 cm de diâmetro e 50 cm de altura. A altura do leito calculada foi de 10,82 cm, que está dentro da faixa admitida pela coluna (GE HEALTHCARE, 2016a). Escolhendo-se a velocidade linear

de fluxo de 400 cm/h e multiplicando-se pela área da seção reta da coluna ( $\pi D^2/4$ ), obtém-se a vazão de operação de 31,41 L/h.

Os tampões utilizados em cada etapa desta cromatografia e seus respectivos volumes necessários são apresentados na Tabela 26.

Tabela 26: Soluções tampão e volumes da coluna necessários a cada etapa do processo de cromatografia de troca aniônica.

| <b>Etapas</b> | <b>Tampão</b>                             | <b>Volume Necessário da Coluna</b> |
|---------------|---|------------------------------------|
| Lavagem       | 20 mM bis Tris buffer (pH 5.8)            | 2 CV                               |
| Regeneração   | 20 mM bis Tris buffer (pH 5.8) + 2 M NaCl | 5 CV                               |
| Equilíbrio    | 20 mM bis Tris buffer (pH 5.8)            | 5 CV                               |
| Limpeza       | 0,1 M NaOH                                | 5 CV                               |

O tempo dispendido para cada etapa do processo cromatográfico é calculado dividindo-se o volume da etapa em questão pela vazão de trabalho, sendo apresentado na Tabela 27.

Tabela 27: Tempo de duração de cada etapa do processo de cromatografia de aniônica.

| <b>Etapas</b>         | <b>Volume (L)</b> | <b>Tempo de duração (h)</b> |
|-----------------------|-------------------|-----------------------------|
| Carregamento          | 18,14             | 0,58                        |
| Lavagem               | 1,7               | 0,054                       |
| Regeneração           | 4,25              | 0,14                        |
| Equilíbrio            | 4,25              | 0,14                        |
| Limpeza               | 4,25              | 0,14                        |
| Tempo global do ciclo |                   | 1,054                       |

Por fim, considerando que essa operação terá rendimento de 98% (ABT *et al.*, 2020), vazão mássica foi reduzida de 87,28 g/dia para 85,53 g/dia.

#### 4.2.8 Diafiltração (2)

Este módulo de diafiltração estará localizado após a etapa de cromatografia de troca aniônica e tem como objetivo realizar troca de solventes. O solvente oriundo da troca aniônica será substituído pelo tampão de equilíbrio da cromatografia de troca catiônica, o qual apresenta composição 30 mM de PBS, com pH 6.

Um novo tanque de dialisante será projetado para armazenar o volume de solução dialisante necessário para a troca de tampão. Dessa forma, para a diafiltração ser completa atingindo 99,5% de pureza, a mesma será realizada a volume constante com troca de volume



igual a 7 vezes do volume da solução oriunda da etapa anterior que corresponde um volume de 1,7 L. O volume de solução dialisante necessária para troca de tampão é de 11,9 L, entretanto, utilizando uma porcentagem máxima do tanque de 90% por este não ter agitação, o volume de projeto do tanque de dialisante será de 13,2 L.

Como o volume de solução dialisante é de 11,9 L e vazão com que deixa o tanque é de 31,41 L/h, o tempo de operação desta etapa será de 22,7 min.

O equipamento a ser utilizado nesta etapa de diafiltração também será o módulo de filtração tangencial Cadence™ Inline Diafiltration Module da empresa Pall, equipado com 12 cassetes de filtro Pall Delta 30 kDa de 93 cm<sup>2</sup> com uma área total de filtração de 0,1 m<sup>2</sup>.

#### **4.2.9 Bolsa de equalização (3)**

A terceira bolsa de equalização será projetada para armazenar todo o volume de concentrado proveniente da segunda etapa de diafiltração. Sendo assim, seu volume operacional é de 1,7 L e, devido fator de segurança de 1,20, o volume final de operação é de 2,04 L.

#### **4.2.10 Cromatografia de troca catiônica**

A coluna de troca catiônica estará localizada após a segunda diafiltração. Nesta etapa, a matriz sólida é carregada negativamente atraindo a proteína de interesse que possui carga líquida positiva no pH operacional, enquanto contaminantes existentes carregados negativamente não são retidos e são removidos ao fluírem pela coluna, resultando no rendimento de 93%.

A resina escolhida será a Resina Cpto S Impact da GE Healthcare. Para o dimensionamento do volume de resina necessário a essa etapa cromatográfica, deve-se considerar que a massa de produto alimentada na coluna é de 85,45 g e que a capacidade dinâmica da resina é de 88 g/ L (ABT *et al.*, 2020). Dessa maneira, o volume operacional de resina é de 0,971 L, que com um fator de segurança de 1,20, resulta em um volume final de 1,17 L.

Com o volume de resina de projeto, é possível dimensionar o diâmetro, altura do leito e altura da coluna pelas fichas técnicas de colunas cromatográficas disponíveis no mercado. Para o dimensionamento realizado foi escolhida a coluna BPG 100/500, que tem 10 cm de diâmetro e 50 cm de altura. A altura do leito calculada foi de 14,9 cm, que está dentro da faixa

admitida pela coluna (GE HEALTHCARE, 2016a). Escolhendo-se a velocidade linear de fluxo de 400 cm/h e multiplicando-se pela área da seção reta da coluna ( $\pi D^2/4$ ), obtém-se a vazão de operação de 31,41 L/h.

Os tampões utilizados em cada etapa desta cromatografia e seus respectivos volumes necessários são apresentados na Tabela 28.

Tabela 28: Soluções tampão e volumes da coluna necessários a cada etapa do processo de cromatografia de troca catiônica.

| <b>Etapas</b> | <b>Tampão</b>                          | <b>Volume Necessário da Coluna</b> |
|---------------|--|------------------------------------|
| Lavagem       | 30 mM PBS buffer (pH 6)                | 5 CV                               |
| Eluição       | Gradiente de 30 mM PBS buffer (pH 7.3) | 15 CV                              |
| Regeneração   | 30 mM PBS buffer (pH 6) + 2 M NaCl     | 5 CV                               |
| Equilíbrio    | 30 mM PBS buffer (pH 6)                | 5 CV                               |
| Limpeza       | 0,1 M NaOH                             | 5 CV                               |

O tempo dispendido para cada etapa do processo cromatográfico é calculado dividindo-se o volume da etapa em questão pela vazão de trabalho, sendo apresentado na Tabela 29.

Tabela 29: Tempo de duração de cada etapa do processo de cromatografia de catiônica.

| <b>Etapas</b>         | <b>Volume (L)</b> | <b>Tempo de duração (h)</b> |
|-----------------------|-------------------|-----------------------------|
| Carregamento          | 1,7               | 0,054                       |
| Lavagem               | 5,85              | 0,19                        |
| Eluição               | 17,55             | 0,56                        |
| Regeneração           | 5,85              | 0,19                        |
| Equilíbrio            | 5,85              | 0,19                        |
| Limpeza               | 5,85              | 0,19                        |
| Tempo global do ciclo |                   | 1,37                        |

Por fim, considerando que essa operação terá rendimento de 93% (ABT *et al.*, 2020), a vazão mássica foi reduzida de 85,45 g/dia para 79,47 g/dia.

#### 4.2.11 Filtração viral

A unidade de filtração viral estará localizada após etapa de cromatografia de troca catiônica com o objetivo de permitir a remoção de partículas virais que possam ter permanecido mesmo após a etapa de inativação viral, garantindo a segurança do medicamento.

No presente trabalho, optou-se pela utilização da membrana Virosart HF Mid-scale de poro de 20 nm e área filtrante 0.2 m<sup>2</sup> da empresa Sartorius. Considerando que essa operação terá um rendimento de 99% (SARTORIUS, 2019), a vazão mássica foi reduzida de 79,47 g/dia para 78,68 g/dia.

#### 4.2.12 Bolsa de equalização (4)

A última bolsa de equalização será projetada para armazenar todo o volume de concentrado proveniente da etapa de filtração viral. Sendo assim, seu volume operacional é de 17,55 L e, devido ao fator de segurança de 1,20, o volume final de operação é de 21,1 L.

#### 4.2.13 Ultrafiltração/diafiltração

Nesse processo, o volume de eluído da coluna cromatográfica de troca catiônica que após a etapa de filtração viral estará armazenado na última bolsa de equalização do processo entrará no sistema de UF/DF para em um primeiro momento ser concentrado e depois ser diafiltrado para promover a troca da solução tampão pela de formulação.

A membrana escolhida para esta etapa é a Kwick lab Cassette da empresa GE Healthcare que possui 0,11 m<sup>2</sup> de superfície e peso molecular de corte igual a 30 kDa. A Figura 13 apresenta o processo:

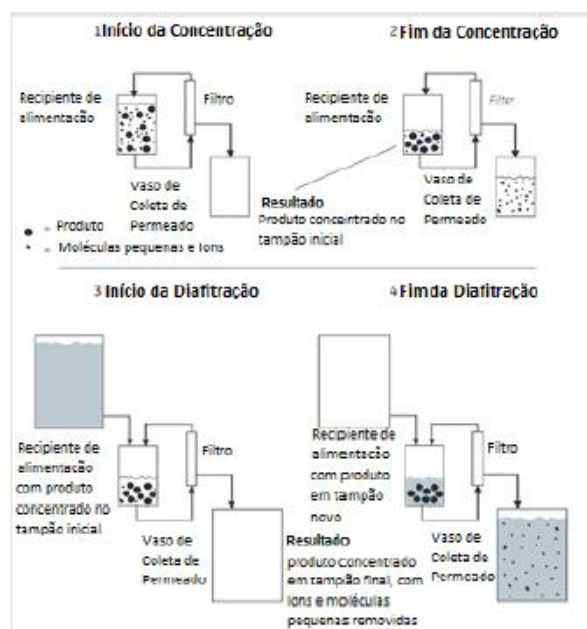


Figura 13: Funcionamento do módulo de ultrafiltração/diafiltração. Adaptado de OLIVEIRA, 2016.

A etapa de concentração é realizada inicialmente para diminuir o volume que está sendo processado para que posteriormente durante a diafiltração, menos tampão necessite ser utilizado. A concentração de produto inicial é a determinada pela etapa de filtração viral com valor de 4,48 g/L.

Segundo fabricante da membrana, para rendimentos elevados trabalhando com anticorpos monoclonais derivados de células CHO, normalmente é possível concentrar as células em até 10x e seguir com uma lavagem de 3 a 5x (CYTIVA, 2021). As configurações do módulo de ultrafiltração/diafiltração estão apresentadas na Tabela 30.

Tabela 30: Dados de UF/DF.

| Parâmetro               | Valor                     |
|-------------------------|---------------------------|
| Área da membrana        | 1,2 ft <sup>2</sup>       |
| Volume de alimentação   | 17,55 L                   |
| Fator de concentração   | 5,58x                     |
| Tempo de ultrafiltração | 0,33 h                    |
| Fluxo do permeado       | 0,6 L/min*ft <sup>2</sup> |
| Volume do concentrado   | 3,15 L                    |
| Volume do permeado      | 14,4 L                    |
| Fator de diluição       | 5x                        |
| Volume de tampão        | 15,75 L                   |
| Tempo de diafiltração   | 0,36 h                    |
| Tempo de operação       | 0,71 h                    |

Foi considerado para este processo um fator de concentração de 5,58x e de diluição de 5x, alcançando uma 25 g/L. Ao final da etapa de concentração, que durou 0,33 h, o volume de concentrado foi de 3,15 L.

Logo em seguida, se inicia a alimentação do tampão de forma contínua. A solução dialisante é água para injetáveis (WFI – water for injection), pois é o tampão da formulação final, e o processo de diálise estará completo quando 5 volumes de concentrado passarem pela membrana.

Dessa forma, como visto na Tabela 31, o volume de solução dialisante será 15,75 L, sendo este o volume de trabalho do tanque de dialisante, que com a margem de segurança de aproximadamente 90%, tem o seu volume final de 17,5 L.

O processo de diafiltração é operado a volume constante, sendo a solução dialisante misturada ao concentrado na mesma vazão de saída do permeado do módulo de ultrafiltração, resultando em 42,6 minutos de duração desta etapa em sua totalidade.

O sistema de filtração utilizado para operar com essa membrana é o ÄKTA flux, do mesmo fabricante da membrana.

Por fim, foi atribuído um rendimento de 95 % para essa etapa de UF/DF, de modo que a vazão mássica se torna 74,75 g/ dia.

#### 4.2.14 Formulação

Esta etapa consiste basicamente em um tanque de equalização que irá comportar o volume de concentrado advindo da etapa de UF/DF mais o volume dos excipientes necessários para a formulação final. A adição dos excipientes é responsável por auxiliar na estabilidade do produto final.

A solução que sai da etapa de UF/DF possui apenas o biofármaco, em solução de água para injetáveis, com concentração de 25 mg/ mL, ao qual é o valor de concentração correta para ser envasado. Nesta etapa, o volume de 3,15 L contendo o Pembrolizumab puro receberá a adição dos excipientes necessários à estabilização do medicamento: polisorbato 80, L-histidina e sacarose (ABT, BURRUSS, *et al.*, 2020).

A Tabela 31 apresenta a concentração e a massa necessária de cada um dos excipientes.

Tabela 31: Concentração e quantidade necessária dos excipientes para formulação.

| Excipiente     | Concentração | Massa   |
|----------------|--------------|---------|
| Polisorbato 80 | 0,2 mg/mL    | 0,63 g  |
| Sacarose       | 70 mg/mL     | 220,5 g |
| L-histidina    | 1,55 mg/mL   | 4,88 g  |

Portanto, o tanque de formulação será projetado para atender o volume operacional de 3,15 L, que com a margem de segurança de aproximadamente 80%, resulta no volume final de 4 L. Considerando o volume calculado, foi selecionado o tanque de mistura Mobius® MIX 10 L, da Merck, para esta etapa.

#### **4.2.15 Processamento final**

Após a completa formulação, o volume de solução de Pembrolizumab a 25 mg/mL é levado à linha de envase, sendo destinado à produção de frascos-ampola de 100 mg em 4 mL de solução. A partir da demanda de 17 kg/ano de Pembrolizumab encontrada na etapa de análise do mercado, calculou-se a produção de 74,75 g/dia do biofármaco. Considerando que o envase ocorre concomitantemente com a produção (273 dias por ano), a margem de segurança de 1,20 e a massa de 100 mg de produto por ampola, calculou-se a produção total de 620 ampolas por dia.

Essa quantidade de ampolas pode ser envasada manualmente ou pode-se terceirizar essa etapa. Para o segundo caso, o Ingrediente Farmacêutico Ativo (IFA) seria transportado para uma segunda planta para o envase e demais etapas posteriores.

Na etapa de envase, o produto é então transferido para os frascos ampola, processo realizado por uma máquina envasadora, que promove a lavagem e esterilização dos recipientes antes de realizar a transferência do produto. Após a transferência, os frascos recebem rolhas de borracha e são fechados parcialmente.

Após o envase, o produto é liofilizado, etapa que consiste numa secagem na qual o produto é congelado e submetido a um processo de sublimação com objetivo de manter as propriedades físico-químicas do produto por um período maior conferindo vantagens como a diminuição da possibilidade de contaminação microbiológica e consequentemente o aumento de sua validade, para depois ser encaminhado o processo de recravação, onde após recebimento dos selos de alumínio, os frascos agora completamente fechados são colocados nas câmaras frias para posterior inspeção/revisão (TOLEDO, 2014).

O processamento final se encerra com as etapas de rotulagem e embalagem, em que os frascos recebem rótulos com a identificação do produto, número de lote, data de fabricação e validade do produto, entre outras informações.

No presente trabalho, o processamento final não foi contabilizado nos cálculos de construção da planta e de aquisição de equipamentos, tendo como perspectiva a possibilidade de terceirização dessa etapa em unidades multipropósitos. Portanto, custos relacionados ao produto final serão contabilizados adicionando-se um valor por ampola aos custos de produção, valor este que seria pago à empresa terceirizada que faria o processamento final.

## **5. ESTIMATIVA DE CUSTOS DE PRODUÇÃO E VIABILIDADE ECONÔMICA**

Este capítulo tem como objetivo avaliar a viabilidade econômica de implantação de uma planta para produção de Pembrolizumab no Brasil a partir do processo descrito no capítulo anterior. Para isto, deve-se considerar aspectos que vão desde o desenvolvimento da célula e tecnologia de produção e purificação, comparabilidade molecular, realização dos testes pré-clínicos e clínicos, o processo de registro do produto biológico junto às agências regulatórias, a construção e operação da planta produtiva até a comercialização do produto.

A viabilidade econômica será verificada através do modelo determinístico de avaliação de projetos, considerando os seguintes métodos: valor presente líquido (VPL), taxa interna de retorno (TIR) e tempo de retorno do investimento (Payback), os quais serão explicados posteriormente. Dessa forma, primeiramente foram estimados o valor do investimento total necessário na planta, custos de produção e a receita advinda com a venda do biofármaco. A partir dessas informações, foi elaborada a demonstração do resultado do exercício (DRE) para cada ano ao longo do horizonte temporal de operação da planta e montado o fluxo de caixa (simples e descontado) para todo o período do projeto.

Por fim, foi realizada uma análise de sensibilidade, de forma a discutir quais são as variáveis que mais influenciam a viabilidade do projeto e os riscos associados ao investimento.

### **5.1 Horizonte de Planejamento do Projeto**

O desenvolvimento de um produto biológico até sua entrada ao mercado é um processo custoso, longo e dividido em muitas etapas, tendo um período médio de 7 a 9 anos, incluindo todo o desenvolvimento do produto, comparabilidade molecular, testes pré-clínicos e clínicos e registro nas agências regulatórias (NICKISCH e BODE-GREUEL, 2013). Dentro desse período, é necessário também considerar o tempo de construção e validação da planta produtiva.

Para o projeto analisado, considerou-se o período de 8 anos para a colocação do produto no mercado, ou seja, desde as primeiras etapas de desenvolvimento até a entrada em operação da planta. A Tabela 32 apresenta este planejamento, detalhando em quais anos cada uma das etapas seria executada. Foi escolhido, ainda, uma vida útil da planta produtiva de 10 anos após o início de sua operação, sendo esta considerada pela questão dos desgastes dos equipamentos e da obsolescência do processo.

Tabela 32: Planejamento das etapas de desenvolvimento do Pembrolizumab, construção da planta produtiva e vida útil da planta.

| <b>Etapas</b>  | <b>Quantidade de anos</b> | <b>Ano correspondente no fluxo de caixa</b> |
|--|---------------------------|---|
| Desenvolvimento do processo, comparabilidade molecular e testes pré-clínicos | 3                         | 0, 1 e 2                                    |
| Testes Clínicos – Fase I   | 1                         | 3   |
| Testes Clínicos – Fase III   | 3                         | 4, 5 e 6                                    |
| Registro do produto e assuntos regulatórios                                  | 1                         | 7   |
| Construção da planta   | 2                         | 6 e 7                                       |
| Validação da planta  | 1                         | 7   |
| Vida útil da planta  | 10                        | 8 até 17                                    |

## 5.2 Estimativa do Investimento Total

O investimento total estimado representa os recursos necessários para viabilizar a implementação do projeto, sendo essencial para a tomada de decisão. Para o presente projeto, será dado pelo somatório dos investimentos em desenvolvimento do processo, testes pré-clínicos e clínicos, assuntos regulatórios e o investimento total requerido para construção, partida e validação da planta produtiva. A seguir, serão apresentadas as referidas estimativas.

### 5.2.1 Investimentos em desenvolvimento do processo, testes pré-clínicos e clínicos e assuntos regulatórios

Na composição do investimento total necessário para produção comercial de um biofármaco, as etapas de desenvolvimento e testes pré-clínicos e clínicos normalmente representam a parcela mais significativa.

Os custos referentes ao desenvolvimento do processo, testes pré-clínicos e clínicos e aspectos regulatórios utilizados neste trabalho foram baseados nas estimativas realizadas por Bode-Greuel e Nickisch (2013), Gutierrez (2015) e Segura (2016). Na Tabela 33, estão apresentados todos os valores considerados referentes a cada etapa atualizados monetariamente no tempo pelo Índice de Preços ao Consumidor (IPC) (FXTOP, 2021).



Tabela 33: Custos das etapas de desenvolvimento, testes pré-clínicos e clínicos e assuntos regulatórios.

| <b>Etapas</b>   | <b>Custo total da etapa (US\$)</b> | <b>Referência</b>            |
|---|------------------------------------|------------------------------|
| Desenvolvimento da célula e tecnologia de produção e purificação  | 5.497.942,35                       | SEGURA, 2016                 |
| Comparabilidade molecular   | 49.481.481,12                      | SEGURA, 2016                 |
| Estudos não-clínicos  | 16.493.827,04                      | GUTIERREZ, 2015              |
| Estudo clínico - fase 1   | 9.091.780,22                       | NICKISCH e BODE-GREUEL, 2013 |
| Estudo clínico - fase 3   | 61.369.516,46                      | NICKISCH e BODE-GREUEL, 2013 |
| Registro do produto e assuntos regulatórios   | 2.272.945,05                       | NICKISCH e BODE-GREUEL, 2013 |
| <b>Investimentos em desenvolvimento do processo, testes pré-clínicos e clínicos e assuntos regulatórios</b> | <b>\$144.207.492,24</b>            |                              |

### 5.2.2 Investimento para implantação da planta produtiva

O investimento para implantação da planta produtiva consiste no somatório do investimento fixo, do capital de giro necessário e dos custos de partida e validação da planta (PETERS e TIMMERHAUS, 1991), que foram estimados através das relações apresentadas na Tabela 34. A partir do valor do custo de aquisição dos equipamentos principais da planta e da construção de salas limpas, todos os outros itens que compõem o investimento para implantação da planta produtiva podem ser estimados.

Tabela 34: Estimativa de Investimento para implantação da planta produtiva

| Item                   |                       |  |  | Custo  |
|------------------------|-----------------------|--|--|--|
| Investimento Fixo (IF) | Custos Diretos (CD)   | ISBL ( <i>Inside Battery Limits</i> )  | Aquisição dos equipamentos principais (AE) | Somatório dos custos dos equipamentos principais |
|                        |                       |  | Instalação dos equipamentos                | 45% do AE  |
|                        |                       |  | Controle e Instrumentação                  | 30% do AE  |
|                        |                       |  | Tubulações                                 | 80% do AE  |
|                        |                       |  | Materiais e Equipamentos Elétricos         | 20% do AE  |
|                        | Custos Indiretos (CI) | OSBL ( <i>Outside Battery Limits</i> ) | -  | 45% do ISBL                                      |
|                        |                       | Construção de áreas limpas (GMP)       | -  | Somatório dos custos dos m <sup>2</sup>          |
| Capital de Giro (CG)   | -                     | -                                      | -  | 15% do IF  |
| Custos de Partida (CP) | -                     | -                                      | -  | 10% do IF  |
| Validação              | -                     | -                                      | -  | 15% da AE  |

Adaptado de SILVEIRA et al., 2005; PETERS e TIMMERHAUS, 1991; FERREIRA et al., 1995; DOUGLAS, 1998.

O investimento fixo corresponde ao capital utilizado para aquisição e instalação dos equipamentos, incluindo todos os recursos auxiliares necessários para a completa operação da planta, podendo ser subdividido em custos diretos e custos indiretos.

Os custos diretos incluem os valores relativos ao ISBL (*Inside Battery Limits*), que engloba todos os custos diretamente relacionados ao processo produtivo; os valores relativos ao OSBL (*Outside Battery Limits*), que representa todos os custos relacionados às unidades auxiliares indispensáveis para o processo produtivo, como unidades de tratamento de efluentes e instalações complementares, dentre outros, e os custos de construção de salas

limpas, aos quais serão abordados em uma seção separada posteriormente (SILVEIRA, PETROCÍNIO e BRAGA, 2005).

Os custos indiretos são aqueles que não estão envolvidos diretamente com o processo produtivo, como autorizações e licenças de funcionamento, custos de design e projeto de engenharia, etc. (PETERS e TIMMERHAUS, 1991).

O capital de giro é o capital necessário para viabilizar a operacionalização do projeto. São custos de investimento destinados aos pagamentos de salários, aos estoques de insumos e de produto acabado e às necessidades mínimas de caixa.

Por fim, custos de partida e validação são aqueles ligados, respectivamente, ao início da operação da planta e à validação do processo produtivo. Os custos de partida são associados às modificações do processo necessárias para atender as especificações da planta, como equipamentos e materiais, mão-de-obra adicional necessária para dar início à operação da planta, etc.

A validação do processo produtivo é uma etapa exigida pela ANVISA através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 17, de abril de 2010, como “evidência documentada que atesta com um alto grau de segurança que um processo específico produzirá um produto de forma consistente, que cumpra com as especificações pré-definidas e características de qualidade” (SILVA, 2020).

### **5.2.3 Custo de aquisição dos equipamentos principais**

O custo de aquisição de cada equipamento principal que compõe o processo de produção proposto neste trabalho foi obtido por cotação direta junto aos fornecedores ou com base em trabalhos anteriores. Para alguns equipamentos, os valores obtidos estão na forma do preço líquido no exterior, sem a inclusão de frete, taxas, imposto de importação e ICMS<sup>13</sup>. Foi admitido para estes equipamentos que o conjunto de taxas e impostos sobre os mesmos representam 100% de seus valores, conforme considerado no trabalho de SILVA (2020). A Tabela 35 apresenta os equipamentos principais do projeto e seus custos de aquisição.

---

<sup>13</sup> ICMS é a sigla que identifica o Imposto sobre Operações relativas à Circulação de Mercadorias e sobre Prestações de Serviços de Transporte Interestadual e Intermunicipal e de Comunicação (SECRETARIA DA FAZENDA E PLANEJAMENTO DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2021).

Tabela 35: Equipamentos principais do processo e custos de aquisição

| Equipamento                                      | Empresa       | Custo unitário (US\$) | Quantidade | Custo de aquisição total (US\$) | Referência                 |
|--|---------------|-----------------------|------------|---------------------------------|----------------------------|
| Tanque de formulação                             | Merck         | 60.000,00             | 1          | 60.000,00                       | SILVA, 2020                |
| Tanque de armazenamento de buffers*              | Sartorius     | 7.514,00              | 5          | 37.570,00                       | SILVA, 2020                |
| Tanque de dialisante*                            | Sartorius     | 4.212,40              | 3          | 12.637,20                       | SILVA, 2020                |
| Tanque de inativação viral                       | Merck         | 80.000,00             | 1          | 80.000,00                       | SILVA, 2020                |
| Tanque de meio de cultivo                        | Thermo Fisher | 20.000,00             | 4          | 160.000,00                      | ABT et al., 2020           |
| Xcellerex XDR-500 Single-Use Bioreactor          | Cytiva        | 393.000,00            | 1          | 786.000,00                      | Cotação via fornecedor     |
| ReadyToProcess WAVE 25 Rocker                    | Cytiva        | 85.000,00             | 1          | 170.000,00                      | Cotação via fornecedor     |
| Hidrociclone - HC2015                            | Cytiva        | 6.487,61              | 1          | 12.975,22                       | SILVEIRA, 2005             |
| Sistema Coluna BPG 100/500                       | Cytiva        | 14.413,19             | 2          | 72.065,96                       | Cotação via fornecedor     |
| Sistema Coluna BPG 300/500                       | Cytiva        | 33.703,37             | 1          | 67.406,74                       | Cotação via fornecedor     |
| Sistema ÄKTA flux 6*                             | Cytiva        | 54.552,80             | 1          | 54.552,80                       | OLIVEIRA, 2016             |
| Sistema Cromatográfico – ÄKTA Process System*    | Cytiva        | 330.182,76            | 1          | 330.182,76                      | SILVA, 2020; SEGURA, 2016  |
| Fluxo Laminar Horizontal PA 120 ECO*             | Pachane       | 7.192,62              | 3          | 21.577,86                       | SILVA, 2020; TAVARES, 2017 |
| <b>Custo Total de Aquisição dos Equipamentos</b> |               | <b>\$1.864.968,54</b> |            |                                 |                            |

\*As cotações originais levaram em conta os custos para internalização no Brasil

## 5.2.4 Custos de construção de áreas limpas

Dentre as diversas condições para a produção de um produto biológico, as áreas limpas fazem parte das Boas Práticas de Fabricação exigidas pelas agências de vigilância sanitária ao redor do mundo.

As áreas limpas são projetadas para obtenção de áreas com controle ambiental definido de contaminação particulada e microbiana, de modo a evitar a introdução, geração e retenção de contaminantes em seu interior, a partir do monitoramento de sistemas de tratamento de ar, do fluxo de pessoas e materiais, das utilidades e da qualificação operacional.

Existem diferentes classificações para as áreas limpas. Para este projeto, utilizou-se a correlação entre as classificações de três normas técnicas prevista no documento técnico da OMS (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002), no qual a RDC N° 210 da ANVISA,

que trata o Regulamento Técnico das Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos no Brasil, se baseia (MIRANDA, 2016). A Tabela 36 apresenta estes dados.

Tabela 36: Correlação entre as três normas técnicas de classificação de áreas

| Correlação entre FS 209, ISO 14644-1 e EU GMP -OMS |                    |               |
|--|--------------------|---------------|
| Classe FS 209                                      | Classe ISO 14644-1 | Classe EU GMP |
| 10   | ISO 5              | A             |
| 100  | ISO 5              | B             |
| 10.000   | ISO 7              | C             |
| 100.000  | ISO 8              | D             |

Adaptado de MIRANDA, 2016

Dessa forma, as áreas limpas são divididas e classificadas conforme a Tabela 37, conforme estabelecido na RDC N° 17 (ANVISA, 2010), sobre Boas Práticas de Fabricação.

Tabela 37: Divisão das áreas limpas da planta por atividade e suas classificações

| Divisão e classificação das áreas da planta |   |               |
|---|---|---------------|
| Identificação                               | Descrição                               | Classificação |
| Área 1                                      | Preparo do inóculo e propagação celular | A/B           |
| Área 2                                      | Sala de biorreatores                    | D             |
| Área 3                                      | <i>Downstream</i>                       | C             |
| Área 4                                      | Formulação                              | A/B           |

Adaptado de MIRANDA, 2016

Para este projeto, com base em trabalhos anteriores publicados, estimou-se a divisão de áreas limpas com 40 m<sup>2</sup> para áreas de classe A e B, 60 m<sup>2</sup> para classe D e 90 m<sup>2</sup> para classe C. O dimensionamento maior estimado para área de classe C ocorre, pois de acordo com a Tabela 37, esta representa área com maior número de etapas do processo produtivo. Importante destacar também que o uso de biorreatores *single use* possibilitou o uso da sala de biorreatores com classificação D, uma vez que o uso da tecnologia *single use* proporciona diminuição do nível de contaminação do processo (MEDRONHO, informação pessoal).

O valor de construção por metro quadrado das áreas limpas varia conforme a sua classificação. A partir da dimensão e classificação de cada área útil proposta para a planta, foram calculados os custos totais para construção de áreas limpas, como apresentado na Tabela 38.

Tabela 38: Custo total de construção de áreas limpas

| Identificação | Descrição                               | Classificação da Área Limpa | Custo (US\$/m²)* | Dimensão (m²) | Custo total por área |
|---------------|---|-----------------------------|------------------|---------------|----------------------|
| Área 1        | Preparo do inóculo e propagação celular | A/B                         | 3.300,00         | 40            | \$ 132.000,00        |
| Área 2        | Sala de biorreatores                    | D                           | 1.000,00         | 60            | \$ 60.000,00         |
| Área 3        | Downstream                              | C                           | 2.000,00         | 90            | \$ 180.000,00        |
| <b>Total</b>  | <b>\$</b>                               |                             |                  |               | <b>372.000,00</b>    |

\*Fonte: MIRANDA, 2016

### 5.2.5 Cálculo do investimento total

A partir das informações apresentadas ao longo da seção 5.2, pode-se calcular o investimento total do projeto. Os resultados são apresentados na Tabela 39.

Tabela 39: Investimento Total do Projeto

| Item   |                       |  |  | Custo                   |
|--|-----------------------|--|--|-------------------------|
| Investimento Fixo (IF)   | Custos Diretos (CD)   | ISBL ( <i>Inside Battery Limits</i> )  | Aquisição dos equipamentos principais (AE) | \$1.864.968,54          |
|  |                       |  | Instalação dos equipamentos                | \$839.235,84            |
|  |                       |  | Controle e Instrumentação                  | \$559.490,56            |
|  |                       |  | Tubulações                                 | \$1.491.974,83          |
|  |                       |  | Materiais e Equipamentos Elétricos         | \$372.993,71            |
|  |                       | OSBL ( <i>Outside Battery Limits</i> ) | -  | \$2.307.898,57          |
|  |                       | Construção de áreas limpas (GMP)       | -  | \$372.000,00            |
|  | Custos Indiretos (CI) | -                                      | -  | \$1.952.140,52          |
| Capital de Giro (CG)   | -                     | -                                      | -  | \$1.464.105,39          |
| Custos de Partida (CP)   | -                     | -                                      | -  | \$976.070,26            |
| Validação  | -                     | -                                      | -  | \$279.745,28            |
| <b>Investimento para implantação da planta produtiva</b>   |                       |  |  | <b>\$12.480.623,51</b>  |
| Investimentos em desenvolvimento do processo, testes pré-clínicos e clínicos e assuntos regulatórios |                       |  |  | \$144.207.492,24        |
| <b>Investimento Total</b>  |                       |  |  | <b>\$156.688.115,75</b> |

### 5.3 Custos de Produção

Os custos de produção de um projeto podem ser divididos em custos fixos e variáveis. Os custos variáveis são aqueles que variam diretamente com a quantidade de produto produzida, contemplando os custos de matérias-primas e utilidades. Os custos fixos são aqueles que independem da quantidade de produto produzida, por exemplo, os custos de mão-de-obra geral e impostos.

Os custos fixos podem ainda ser divididos em custos desembolsáveis diretos, que são os custos diretamente relacionados à produção, incluindo mão-de-obra geral, custo de manutenção de equipamentos e outras despesas gerais, e em custos desembolsáveis indiretos, que são os que não são diretamente ligados ao processo, podendo incluir pagamento de impostos, transportadoras, etc.

A Tabela 40 apresenta a forma de estimativa de custos de produção utilizada neste trabalho, tendo como ponto de partida o somatório dos custos de matérias-primas.

Tabela 40: Estimativa do custo total de produção

| Item                              |                                 |                               | Custo  |
|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--|
| Custos Variáveis                  | Matérias-primas                 | -                             | Somatório dos custos das matérias-primas da produção |
|                                   | Utilidades                      | -                             | 15% CTP  |
| Custos Fixos                      | Custos desembolsáveis diretos   | Mão-de-obra de operação (MOP) | 10% CTP  |
|                                   |                                 | Supervisão e chefia           | 10% MOP  |
|                                   |                                 | Cargos de laboratório         | 10% MOP  |
|                                   |                                 | Manutenção                    | 4% ISBL  |
|                                   |                                 | Despesas gerais               | 45% MOP  |
|                                   | Custos desembolsáveis indiretos | Despesas gerais               | 65% MOP e manutenção                                 |
|                                   |                                 | Impostos e seguros            | 1,5% IF  |
| Custos de Total de Produção (CTP) |                                 |                               | Somatório dos custos fixos e variáveis               |

Adaptado de SILVEIRA et al., 2005; PETERS e TIMMERHAUS, 1991; FERREIRA et al., 1995; DOUGLAS, 1998.

#### 5.3.1 Custos das matérias-primas

O custo das matérias-primas e acessórios necessários para a produção foram cotados junto aos fornecedores e alguns deles obtidos com base em trabalhos anteriores, sem considerar nenhum reajuste de preço durante todo período de operação da planta.

Algumas cotações de preços das matérias-primas foram obtidas no exterior e sem a inclusão de taxas e impostos. Para tais casos, assim como no caso da cotação de alguns equipamentos principais, assumiu-se que o conjunto de taxas e impostos sobre o equipamento representa 100% de seu valor. A Tabela 41 apresenta os custos de matérias-primas e acessórios considerados neste trabalho.

Tabela 41: Custo anual das matérias-primas e acessórios utilizados na produção

| <b>Matéria prima</b>                                       | <b>Fornecedor</b> | <b>Unidade</b> | <b>Custo unitário (US\$)</b> | <b>Quantidade /ano</b> | <b>Custo anual (US\$)</b> | <b>Referência</b>      |
|--|-------------------|----------------|------------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------|
| Frasco Erlenmeyer 250 mL                                   | Corning           | -              | 16,80                        | 13                     | 436,80                    | Cotação via fornecedor |
| Frasco Erlenmeyer 2L                                       | Corning           | -              | 35,50                        | 13                     | 923,00                    | Cotação via fornecedor |
| Sartobran® P 0.45 µm*                                      | Sartorius         | -              | 728,63                       | 13                     | 9.472,19                  | SILVA, 2020            |
| Sartopore® 2 XLM*  | Sartorius         | -              | 838,63                       | 13                     | 10.902,19                 | Cotação via fornecedor |
| Resina POROS™ MabCapture™ A Select*                        | ThermoFisher      | L              | 35.516,60                    | 40                     | 1.420.664,00              | Cotação via fornecedor |
| Wave Cellbag 20L   | GE                | -              | 631,59                       | 13                     | 16.421,34                 | Cotação via fornecedor |
| XDR-500 Pro Bag  | GE                | -              | 5.502,44                     | 13                     | 143.063,44                | Cotação via fornecedor |
| Bolsa Descartável de Inativação Viral 50L                  | Merck             | -              | 500,00                       | 13                     | 13.000,00                 | Cotação via fornecedor |
| Bolsa Descartável de Formulação 10L                        | Merck             | -              | 300,00                       | 13                     | 7.800,00                  | SILVA, 2020            |
| Bolsa Descartável de Coleta Overflow 500L                  | Merck             | -              | 800,00                       | 13                     | 20.800,00                 | SILVA, 2020            |
| Bolsa Descartável de Preparo e Armazenamento de Meio 2000L | Merck             | -              | 500,00                       | 13                     | 13.000,00                 | ABT et al., 2020       |
| Pall Cadence Inline Diafiltration Module                   | Pall              | -              | 4.721,00                     | 2                      | 18.884,00                 | ABT et al., 2020       |
| Pall 30kD T02 Centramate                                   | Pall              | -              | 434,00                       | 312                    | 145.824,00                | ABT et al., 2020       |
| Bolsa Descartável de Equalização 50L                       | Merck             | -              | 150,00                       | 39                     | 11.700,00                 | SILVA, 2020            |



|  |           |                       |          |        |              |                        |
|--|-----------|-----------------------|----------|--------|--------------|------------------------|
| Bolsa Descartável de Dialisante 200L             | Merck     | -                     | 600,00   | 39     | 23.400,00    | SILVA, 2020            |
| Resina Capto S                                   | GE        | L                     | 3.864,00 | 16     | 123.648,00   | Cotação via fornecedor |
| Resina Capto Q                                   | GE        | L                     | 2.167,00 | 11     | 47.674,00    | Cotação via fornecedor |
| Virosart®HF Mid-scale                            | Sartorius | -                     | 1.280,41 | 13     | 33.290,66    | Cotação via fornecedor |
| Ampolas*   | -         | -                     | 0,22     | 171990 | 37.858,76    | OLIVEIRA, 2016         |
| Membrana Kwick Lab Cassette                      | GE        | -                     | 627,35   | 13     | 16.311,10    | Cotação via fornecedor |
| Kwick Lab Cassette Holder                        | GE        | -                     | 3.632,00 | 1      | 7.264,00     | Cotação via fornecedor |
| Bis Tris*  | Sigma     | kg                    | 640,00   | 10     | 6.400,00     | Cotação via fornecedor |
| NaOH*  | Sigma     | kg                    | 191,00   | 2      | 382,00       | Cotação via fornecedor |
| Ácido fosfórico*                                 | Sigma     | 100 g                 | 112,00   | 4      | 448,00       | Cotação via fornecedor |
| Cloridrato de glicina*                           | Sigma     | kg                    | 303,00   | 3      | 909,00       | Cotação via fornecedor |
| NaCl*  | Sigma     | kg                    | 32,30    | 10     | 323,00       | Cotação via fornecedor |
| PBS*   | Sigma     | L                     | 96,25    | 60     | 5.775,00     | Cotação via fornecedor |
| WFI*   | Millipore | L                     | 9,60     | 200    | 1.920,00     | Cotação via fornecedor |
| Meio de Cultivo HEK-GM                           | Xell      | L                     | 37,32    | 73331  | 5.473.425,84 | SILVA, 2020            |
| Polisorbato 80*                                  | Sigma     | 100 g                 | 28,90    | 1      | 28,90        | Cotação via fornecedor |
| Sacarose*  | Sigma     | kg                    | 89,10    | 3      | 267,30       | Cotação via fornecedor |
| L-histidina*                                     | Sigma     | 25 g                  | 55,80    | 3      | 167,40       | Cotação via fornecedor |
| <b>Custo Anual de Aquisição de Matéria-Prima</b> |           | <b>\$7.612.383,92</b> |          |        |              |                        |

\* As cotações originais levaram em conta os custos para internalização no Brasil

É interessante observar que o meio de cultivo cotado para este projeto e a resina utilizada na cromatografia de afinidade de proteína A representam os maiores custos dentre as matérias-primas, conforme Figura 14. Entretanto, infere-se que a cotação do meio de cultivo realizada não considerou a linhagem celular proposta do trabalho. Para a linhagem celular proposta, geralmente o preço por litro de meio de cultivo específico é mais barato comparado ao meio de cultivo HEK-GM (ALVIM, informação pessoal), podendo impactar positivamente na viabilidade do projeto com a diminuição dos custos das matérias-primas.

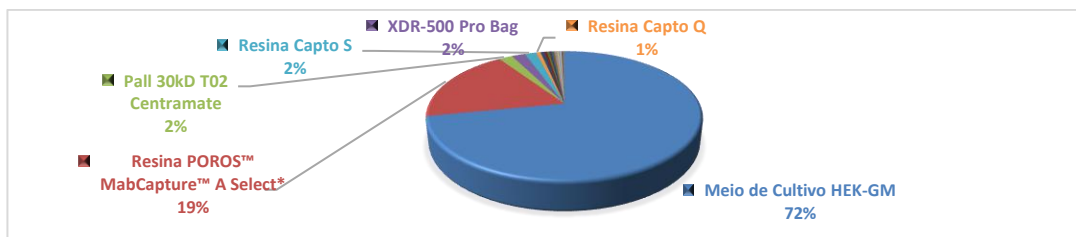


Figura 14: Matérias-primas com maior impacto nos custos

### 5.3.2 Custo total de produção

A partir do custo das matérias-primas, calcula-se o custo total de produção a partir das relações apresentadas na Tabela 40. O custo total de produção sem considerar o processamento final do produto é apresentado na Tabela 42.

Tabela 42: Custo total de produção sem considerar o processamento final

| Item                              |                                 |                               | Custo           |
|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| Custos Variáveis                  | Matérias-primas                 | -                             | \$7.612.383,92  |
|                                   | Utilidades                      | -                             | \$1.959.020,87  |
| Custos Fixos                      | Custos desembolsáveis diretos   | Mão-de-obra de operação (MOP) | \$1.306.013,91  |
|                                   |                                 | Supervisão e chefia           | \$130.601,39    |
|                                   |                                 | Cargos de laboratório         | \$130.601,39    |
|                                   |                                 | Manutenção                    | \$205.146,54    |
|                                   |                                 | Despesas gerais               | \$587.706,26    |
|                                   | Custos desembolsáveis indiretos | Despesas gerais               | \$982.254,29    |
|                                   |                                 | Impostos e seguros            | \$146.410,54    |
| Custos de Total de Produção (CTP) |                                 |                               | \$13.060.139,10 |

Para inclusão dos custos do processamento final do produto nos custos de produção foi adotado um método que consiste em calcular o custo de produção por frasco ampola do produto sem o processamento final – calculado dividindo o custo total de produção pelo número de frasco ampolas produzidos – e somar a este, o custo referente ao processamento final de cada frasco ampola do produto, obtendo-se o custo de produção por frasco ampola do produto final. Esse valor é multiplicado pelo número de frascos ampolas produzidos para obter-se o custo total de produção incluindo o processamento final.

O custo total de produção por frasco-ampola sem considerar o processamento final é de aproximadamente US\$ 77,16/frasco-ampola. A esse valor foi acrescentado US\$ 10,00/frasco-ampola, referente ao processamento final do produto (KELLEY, 2009).

O custo final de produção por frasco-ampola considerando o processamento final obtido é de aproximadamente US\$ 87,16/ frasco-ampola. Multiplicando este valor pelo número de frascos ampolas produzidos (169.260/ano), obtêm-se o custo total de produção de US\$ 14.752.739,10 por ano. A Tabela 43 apresenta o custo total de produção do produto considerando o processamento final, com o custo variável de matérias-primas recalculado pelo processamento final e com os custos fixos e variável de utilidades ajustados ao novo total calculado.

Tabela 43: Custo total de produção considerando o processamento final

| Item                              |                                 |                               | Custo           |
|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| Custos Variáveis                  | Matérias-primas                 | -                             | \$8.661.795,92  |
|                                   | Utilidades                      | -                             | \$2.212.910,87  |
| Custos Fixos                      | Custos desembolsáveis diretos   | Mão-de-obra de operação (MOP) | \$1.475.273,91  |
|                                   |                                 | Supervisão e chefia           | \$147.527,39    |
|                                   |                                 | Cargos de laboratório         | \$147.527,39    |
|                                   |                                 | Manutenção                    | \$205.146,54    |
|                                   |                                 | Despesas gerais               | \$663.873,26    |
|                                   | Custos desembolsáveis indiretos | Despesas gerais               | \$1.092.273,29  |
|                                   |                                 | Impostos e seguros            | \$146.410,54    |
| Custos de Total de Produção (CTP) |                                 |                               | \$14.752.739,10 |

#### 5.4 Demonstração de resultados de exercício (DRE)

A DRE é um demonstrativo contábil que evidencia informações importantes do empreendimento ao confrontar receitas, custos e despesas do projeto em um determinado período. Também é um instrumento importante para o cálculo do imposto de renda (IR) aplicado ao projeto, que representa uma saída no fluxo de caixa (SILVA, 2020).

A receita líquida do projeto foi calculada a partir da venda do produto a um determinado preço. O preço de venda adotado tem como base o preço da licitação de 2020 mais atualizada, a qual representa a licitação com maior demanda de compra para o produto e com tipo de compra administrativa, referente à apresentação farmacêutica frasco-ampola de 4

ml com 100 mg, obtido através das informações divulgadas no Banco de Preços em Saúde. O resultado da busca é apresentado na Figura 15.

| BPS Banco de Preços em Saúde  |  |                         |          |                 |                      |               |             |   |                        |                      |              |    |                     |                |                       |                  |
|---|--|-------------------------|----------|-----------------|----------------------|---------------|-------------|---|------------------------|----------------------|--------------|----|---------------------|----------------|-----------------------|------------------|
| <div>  <div> Ministério da Saúde<br/> Secretaria Executiva<br/> Departamento de Economia da Saúde, Investimentos e Desenvolvimento<br/> Coordenação Geral de Economia da Saúde<br/> BPS - Banco de Preços em Saúde </div> </div> |  |                         |          |                 |                      |               |             |   |                        |                      |              |    |                     |                |                       |                  |
| <div> <div>Sábado 03 Abril 2021 11:46</div> <div>GERAL</div> <div>Usuário: Gabrielle Fidalgo Sentiero</div> </div>  |  |                         |          |                 |                      |               |             |   |                        |                      |              |    |                     |                |                       |                  |
| DADOS DO ITEM   |  |                         |          | DADOS DA COMPRA |                      |               |             | DADOS DO FABRICANTE/FORNECEDOR          |                        | DADOS DA INSTITUIÇÃO |              |    | VALORES             |                |                       |                  |
| CÓDIGO BR   | DESCRIÇÃO CATMAT   | UNIDADE DE FORNECIMENTO | GENÉRICO | DATA COMPRA     | MODALIDADE DA COMPRA | DATA INSERÇÃO | TIPO COMPRA | FABRICANTE                              | FORNECEDOR             | NOME DA INSTITUIÇÃO  | MUNICÍPIO    | UF | QTD ITENS COMPRADOS | PREÇO UNITÁRIO | CMED - PREÇO REGULADO | COMPETÊNCIA CMED |
| BR04402 69  | PEMBROLIZUMABE, CONCENTRAÇÃO 25 MG/ML, FORMA FARMACÊUTICA: SOLUÇÃO INJETÁVEL | FRASCO-AMPOLA           | Não      | 03/09/2020      | Pregão               | 01/10/2020    | A           | MERCK SHARP & DOHME FARMACEUTICALS LTDA | ELFA MEDICAMENTOS LTDA | SECRETARIA DA SAUDE  | PORTO ALEGRE | RS | 1680                | 15.624,0500    | 15.624,0500           | 03/2021          |
|   |  |                         |          |                 |                      |               |             |   |                        |                      |              |    |                     |                |                       | 15.624,0500      |

Figura 15: Resultado da licitação para o ano de 2020 utilizada para cálculo do preço do Pembrolizumab

O preço encontrado foi de R\$ 15624,05/frasco-ampola (100mg), o qual está de acordo com o preço tabelado na lista de preços de medicamentos da Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (CMED) da ANVISA. Trabalhando com uma redução de 30% no preço deste medicamento, este será de R\$10936,84 que correlacionando para dólares, utilizando a cotação de 4 de abril de 2021 correspondente a R\$5,71/US\$, equivale à US\$ 1.915,38.

Para este projeto foi considerada a taxa de ocupação da planta que atenda a toda demanda projetada no horizonte de planejamento do projeto, ou seja, desde a sua partida em 2029 até o ano de 2038. Portanto, considerando o atendimento completo a cada demanda anual estimada no Capítulo 3, a receita acompanhará o número crescente de frascos-ampola demandados e para o seu cálculo, deve ser considerado o valor proposto e o quantitativo estimado de venda para cada período.

Para o cálculo das despesas operacionais, estas foram assumidas como as despesas administrativas, comerciais e de vendas e apenas uma parcela do P&D, uma vez que as despesas com P&D são majoritariamente nos testes de comparabilidade molecular e testes clínicos e não clínicos. Dessa forma, as despesas operacionais foram assumidas como 20% da receita, considerando 5% para P&D e 15% para as outras despesas (NICKISCH e BODE-GREUEL, 2013). O lucro operacional é calculado subtraindo da receita os custos fixos e variáveis e as despesas operacionais. Como foi admitido que nenhuma fonte de financiamento seria utilizada, as despesas financeiras foram nulas. A depreciação anual foi calculada dividindo o investimento fixo pelo tempo de operação da planta (10 anos). Subtraindo-se do lucro operacional a depreciação, obtêm-se o lucro tributável, ao qual é aplicado o imposto de

renda (IR), assumido como 34% do lucro tributável (SILVA, 2020), obtendo-se, por fim, o lucro após o IR. A estrutura da DRE do projeto é apresentada na Tabela 44.

Tabela 44: Demonstração de resultados do exercício do projeto

|                                  | Ano 8 (US\$)   | Ano 9 (US\$)   | Ano 10 (US\$)  | Ano 11 (US\$)  | Ano 12 (US\$)  |
|----------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>Receita Líquida</b>           | 303.205.214,01 | 304.737.520,84 | 306.078.289,32 | 307.227.519,44 | 308.376.749,56 |
| (-) Custo Variável               | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  |
| (-) Custo Fixo (sem depreciação) | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   |
| (-) Despesas (20% das receitas)  | 60.641.042,80  | 60.947.504,17  | 61.215.657,86  | 61.445.503,89  | 61.675.349,91  |
| <b>Lucro Operacional</b>         | 227.811.432,11 | 229.037.277,57 | 230.109.892,35 | 231.029.276,45 | 231.948.660,55 |
| (-) Despesas Financeiras (juros) | -              | -              | -              | -              | -              |
| (-) Depreciação                  | 976.070,26     | 976.070,26     | 976.070,26     | 976.070,26     | 976.070,26     |
| <b>Lucro Tributável</b>          | 226.835.361,85 | 228.061.207,31 | 229.133.822,09 | 230.053.206,19 | 230.972.590,29 |
| (-) IR                           | 77.124.023,03  | 77.540.810,49  | 77.905.499,51  | 78.218.090,10  | 78.530.680,70  |
| <b>Lucro depois IR</b>           | 149.711.338,82 | 150.520.396,83 | 151.228.322,58 | 151.835.116,09 | 152.441.909,59 |

|                                  | Ano 13 (US\$)  | Ano 14 (US\$)  | Ano 15 (US\$)  | Ano 16 (US\$)  | Ano 17 (US\$)  |
|----------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>Receita Líquida</b>           | 309.717.518,04 | 310.483.671,45 | 311.441.363,22 | 312.399.054,99 | 312.973.670,05 |
| (-) Custo Variável               | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  |
| (-) Custo Fixo (sem depreciação) | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   |
| (-) Despesas (20% das receitas)  | 61.943.503,61  | 62.096.734,29  | 62.288.272,64  | 62.479.811,00  | 62.594.734,01  |
| <b>Lucro Operacional</b>         | 233.021.275,33 | 233.634.198,06 | 234.400.351,48 | 235.166.504,89 | 235.626.196,94 |
| (-) Despesas Financeiras (juros) | -              | -              | -              | -              | -              |
| (-) Depreciação                  | 976.070,26     | 976.070,26     | 976.070,26     | 976.070,26     | 976.070,26     |
| <b>Lucro Tributável</b>          | 232.045.205,07 | 232.658.127,80 | 233.424.281,22 | 234.190.434,63 | 234.650.126,68 |
| (-) IR                           | 78.895.369,72  | 79.103.763,45  | 79.364.255,61  | 79.624.747,77  | 79.781.043,07  |
| <b>Lucro depois IR</b>           | 153.149.835,35 | 153.554.364,35 | 154.060.025,60 | 154.565.686,86 | 154.869.083,61 |

## 5.5 Fluxo de caixa

O fluxo de caixa é a ferramenta que permite calcular os indicadores de viabilidade do projeto, ao retratar todas as entradas e saídas do caixa do projeto ao longo do período avaliado. No caso deste trabalho, considerou-se o período de 17 anos, composto pelos 7 anos necessários para o desenvolvimento do processo, estudos pré-clínicos e clínicos, construção da planta e obtenção de registro do produto e os 10 anos de operação da planta.

O fluxo de caixa de um projeto pode ser calculado de duas formas diferentes, sendo a primeira denominada de fluxo de caixa simples, obtido através do somatório de todas as entradas e saídas ao longo do período avaliado, e a segunda forma denominada de fluxo de caixa descontado, no qual todos os fluxos de caixa são trazidos à valor presente (ano inicial do

projeto) através de uma taxa de desconto que represente o custo de capital, chamada de taxa mínima de atratividade (TMA).

A projeção do fluxo de caixa deste projeto (Tabelas 45 e 46) foi realizada considerando a projeção para a receita, custos totais de produção e o investimento total discutidos nos itens anteriores.

Tabela 45: Fluxo de caixa durante o desenvolvimento do processo e do produto e a construção da planta

|  | Ano 0 (US\$)   | Ano 1 (US\$)   | Ano 2 (US\$)   | Ano 3 (US\$)  | Ano 4 (US\$)   | Ano 5 (US\$)   | Ano 6 (US\$)   | Ano 7 (US\$)  |
|--|----------------|----------------|----------------|---------------|----------------|----------------|----------------|---------------|
| <b>Entradas</b>                                    |                |                |                |               |                |                |                |               |
| Receitas Operacionais Líquidas                     | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | -             |
| Financiamento (recebimento de empréstimos)         | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | -             |
| Capital de giro recuperado                         | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | -             |
| Valor residual do projeto                          | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | -             |
| Receitas financeiras                               | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | -             |
| <b>Saídas</b>                                      |                |                |                |               |                |                |                |               |
| Custos de Produção                                 |                |                |                |               |                |                |                |               |
| Custos variáveis                                   | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | -             |
| Custos fixos desembolsáveis                        | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | -             |
| Despesas operacionais                              | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | -             |
| Despesas financeiras (juros)                       | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | -             |
| Investimento total                                 |                |                |                |               |                |                |                |               |
| Desenvolvimento do Processo e Estudos Pré-Clínicos | 23.824.416,84  | 23.824.416,84  | 23.824.416,84  | -             | -              | -              | -              | -             |
| Estudo Clínico - Fase 1                            | -              | -              | -              | 9.091.780,22  | -              | -              | -              | -             |
| Estudo Clínico - Fase 3                            | -              | -              | -              | -             | 20.456.505,49  | 20.456.505,49  | 20.456.505,49  | -             |
| Custos Regulatórios                                | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | 2.272.945,05  |
| Validação  | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | 279.745,28    |
| Custo de Partida                                   | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | 976.070,26    |
| Investimento fixo                                  | -              | -              | -              | -             | -              | -              | 5.856.421,55   | 3.904.281,03  |
| Capital de giro                                    | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | 1.464.105,39  |
| Amortização da dívida                              | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | -             |
| Impostos   | -              | -              | -              | -             | -              | -              | -              | -             |
| <b>FC simples</b>                                  | -23.824.416,84 | -23.824.416,84 | -23.824.416,84 | -9.091.780,22 | -20.456.505,49 | -20.456.505,49 | -26.312.927,04 | -8.897.147,01 |
| <b>FC descontado</b>                               | -23.824.416,84 | -20.716.884,21 | -18.014.681,92 | -5.977.993,08 | -11.696.073,41 | -10.170.498,61 | -11.375.804,49 | -3.344.767,11 |

Tabela 46: Fluxo de caixa durante a operação da planta produtiva

|  | Ano 8 (US\$)   | Ano 9 (US\$)   | Ano 10 (US\$)  | Ano 11 (US\$)  | Ano 12 (US\$)  | Ano 13 (US\$)  | Ano 14 (US\$)  | Ano 15 (US\$)  | Ano 16 (US\$)  | Ano 17 (US\$)  |
|--|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>Entradas</b>                                    |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                |
| Receitas Operacionais Líquidas                     | 303.205.214,01 | 304.737.520,84 | 306.078.289,32 | 307.227.519,44 | 308.376.749,56 | 309.717.518,04 | 310.483.671,45 | 311.441.363,22 | 312.399.054,99 | 312.973.670,05 |
| Financiamento (recebimento de empréstimos)         | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Capital de giro recuperado                         | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | 1.464.105,39   |
| Valor residual do projeto                          | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Receitas financeiras                               | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| <b>Saídas</b>                                      |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                |
| Custos de Produção                                 |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                |
| Custos variáveis                                   | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  | 10.874.706,78  |
| Custos fixos desembolsáveis                        | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   | 3.878.032,32   |
| Despesas operacionais                              | 60.641.042,80  | 60.947.504,17  | 61.215.657,86  | 61.445.503,89  | 61.675.349,91  | 61.943.503,61  | 62.096.734,29  | 62.288.272,64  | 62.479.811,00  | 62.594.734,01  |
| Despesas financeiras (juros)                       | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Investimento total                                 |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                |
| Desenvolvimento do Processo e Estudos Pré-Clínicos | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Estudo Clínico - Fase 1                            | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Estudo Clínico - Fase 3                            | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Custos Regulatórios                                | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Validação  | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Custo de Partida                                   | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Investimento fixo                                  | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Capital de giro                                    | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Amortização da dívida                              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              |
| Impostos   | 77.124.023,03  | 77.540.810,49  | 77.905.499,51  | 78.218.090,10  | 78.530.680,70  | 78.895.369,72  | 79.103.763,45  | 79.364.255,61  | 79.624.747,77  | 79.781.043,07  |
| <b>FC simples</b>                                  | 150.687.409,08 | 151.496.467,08 | 152.204.392,84 | 152.811.186,34 | 153.417.979,85 | 154.125.905,60 | 154.530.434,61 | 155.036.095,86 | 155.541.757,12 | 157.309.259,26 |
| <b>FC descontado</b>                               | 49.259.981,32  | 43.064.751,15  | 37.622.598,11  | 32.845.728,86  | 28.674.917,40  | 25.049.768,51  | 21.839.578,94  | 19.053.081,19  | 16.621.934,06  | 14.618.102,41  |



## **5.6 Valor presente líquido (VPL)**

O valor presente líquido (VPL) é a diferença entre o valor presente das entradas e saídas de caixa no horizonte do empreendimento, assumindo determinada taxa de desconto, chamada taxa mínima de atratividade (TMA).

A TMA é a taxa mínima na qual um investidor considera atrativa a realização do investimento, a qual pode ser influenciada por diversos fatores como o risco do investimento, o custo do capital, o custo de oportunidade, a conjuntura econômica, etc. No caso do setor de biofármacos, é usual considerar a TMA entre 12-20% ao ano (GONZAGA *et al.*, 2009).

Considerando um cenário otimista, em que as taxas de desconto reais no Brasil variam de 13% a 15%, foi assumido o valor de 15% ao ano para tornar o estudo mais conservador do presente trabalho.

O projeto é considerado não atrativo quando o VPL é negativo e atrativo quando positivo, pois significa que as quantias futuras, descontadas à TMA, superam o investimento inicial necessário. Toda vez que se consegue investir uma quantia exatamente igual à taxa de atratividade, o valor presente do projeto como um todo será nulo.

Obteve-se o VPL de US\$ 183.529.322,30, indicando que o projeto seria viável economicamente nas premissas consideradas pelo estudo.

## **5.7 Taxa interna de retorno (TIR)**

A taxa interna de retorno (TIR) é a taxa de juros que iguala o VPL à zero, podendo também ser considerada como o valor limite da taxa mínima de atratividade para que o projeto seja viável.

Este método de análise de viabilidade econômica do projeto consiste no cálculo da taxa interna de retorno do projeto e na comparação desta com a taxa mínima de atratividade. Sempre que a taxa de retorno de um investimento for superior à sua taxa de atratividade, o projeto pode ser considerado economicamente viável. A diferença entre a TIR e a TMA também pode ser interpretada como a margem de segurança para a tomada de decisão. Quanto maior for esse intervalo, maior a segurança do investimento.

Neste projeto, a TIR foi calculada obtendo-se o valor de 29,06%, portanto acima do valor de 15% da TMA, indicando que o projeto pode ser considerado economicamente viável dentro das condições estudadas.

## **5.8 Tempo de retorno (Payback)**

O tempo de retorno (TR) ou *payback* pode ser definido como o período para o qual o VPL do fluxo de caixa se iguale a zero, ou seja, reflete o tempo necessário para recuperar o valor do capital investido.

O TR é um método amplamente utilizado pela rapidez e facilidade de interpretação. Entretanto, é considerado uma metodologia conservadora, uma vez que projetos com TR muito longos são rapidamente descartados, podendo ser considerados de maiores riscos, sem haver considerações cuidadosas de outros fatores do projeto.

O tempo de retorno do investimento para o projeto analisado neste trabalho é entre o 9º e o 10º ano, aproximadamente 2 anos e 4 meses após o início da operação da planta produtiva, indicando que o projeto retorna o valor do investimento rapidamente.

## **5.9 Análises de sensibilidade**

A análise de sensibilidade é um método utilizado em condições de incerteza que tem como objetivo identificar as variáveis que influenciam de forma mais significativa a viabilidade do projeto, possibilitando uma análise mais completa sobre os pontos críticos envolvidos no empreendimento.

Para este trabalho, foi avaliada a sensibilidade do projeto em relação às seguintes variáveis: preço unitário de venda do Pembrolizumab, número de frascos ampolas comercializados e custos para o desenvolvimento do processo, comparabilidade molecular, estudos pré-clínicos e clínicos. As justificativas para a escolhas das referidas variáveis no estudo de sensibilidade serão abordadas a seguir.

### **5.9.1 Preço de venda**

O preço é uma variável crítica para o sucesso de qualquer produto biossimilar devido aos altos investimentos envolvidos no seu desenvolvimento até entrada no mercado. Isto justifica a necessidade de gerar uma receita alta para que a planta proporcione lucro ao projeto.

Além disso, o preço de venda de um biossimilar pode sofrer mudanças ao longo dos anos de comercialização do produto por questões cambiais inerentes ao tempo, como desvalorização da moeda, acarretando numa diminuição do faturamento, e também pela entrada de outros players no mercado fabricantes deste biossimiliar e/ou entrada de outros biossimilares com indicações terapêuticas semelhantes. A concorrência entre os produtos devido a existência de outras opções disponíveis provoca reduções dos preços, a qual não ocorreria caso houvesse apenas um biossimilar de referência disponível para aquisição.

O preço utilizado no projeto tem como referência o valor praticado no mercado referente à importação feita pelo Ministério da Saúde. Um dos objetivos do incentivo do Ministério da Saúde a projetos de produção de biossimilares nacionais é possibilitar a redução do preço de venda, uma vez que ocorre a internalização da produção. Portanto, inicialmente foi considerada uma redução de 30% do preço praticado no mercado.

Entretanto, de acordo com o relatório de recomendação da CONITEC (CONITEC, 2020a), estimou-se valores de R\$4.300 e R\$12.000 para o custo mensal de tratamento de forma a alcançar limiares de ICER<sup>14</sup> de 1 e 3 PIB per capita respectivamente. Considerando que no ciclo de tratamento, a dose tanto em monoterapia como em combinação deve ser repetida a cada 3 semanas, os valores estimados correspondem ao preço unitário recomendado do produto, que correlacionando para dólares, utilizando a cotação de 4 de abril de 2021 correspondente a R\$5,71/US\$, equivalem, respectivamente, à US\$ 753,06 e US\$ 2101,58.

Dessa forma, análises de sensibilidade em relação ao preço unitário de venda do Pembrolizumab foram realizadas, considerando estes valores e outros criando diferentes cenários de redução para o preço do biossimilar. A Figura 16 apresenta a variação dos indicadores VPL e TIR em relação à variação de preço. Pode-se observar que com o valor do frasco ampola abaixo de US\$ 768,00, o VPL passa a ser negativo e a TIR se torna menor que a TMA, mostrando que o projeto se torna economicamente inviável. Este valor corresponde a uma redução de aproximadamente 72% do preço praticado no mercado. Esta análise demonstra que mesmo se o preço no mercado do produto sofrer uma queda brusca o empreendimento ainda se mantém viável, dando maior segurança ao projeto.

---

<sup>14</sup> Razão de custo-efetividade incremental (ICER – *incremental cost-effectiveness ratio*). No relatório da CONITEC, a partir de uma análise de sensibilidade realizada, limiares de preços foram construídos para averiguar qual seria o melhor preço do produto biológico a ser negociado para ter ICER de 1 e 3 PIB per capita. (CONITEC, 2020a).

A análise mostra também que o preço de venda de US\$ 753,06 estimado pelo relatório do CONITEC seria extremamente sensível e crítico à viabilidade do projeto, sendo necessário modificar outras condições conjuntamente, por exemplo, redução dos custos de desenvolvimento do produto, para tornar o projeto novamente viável.

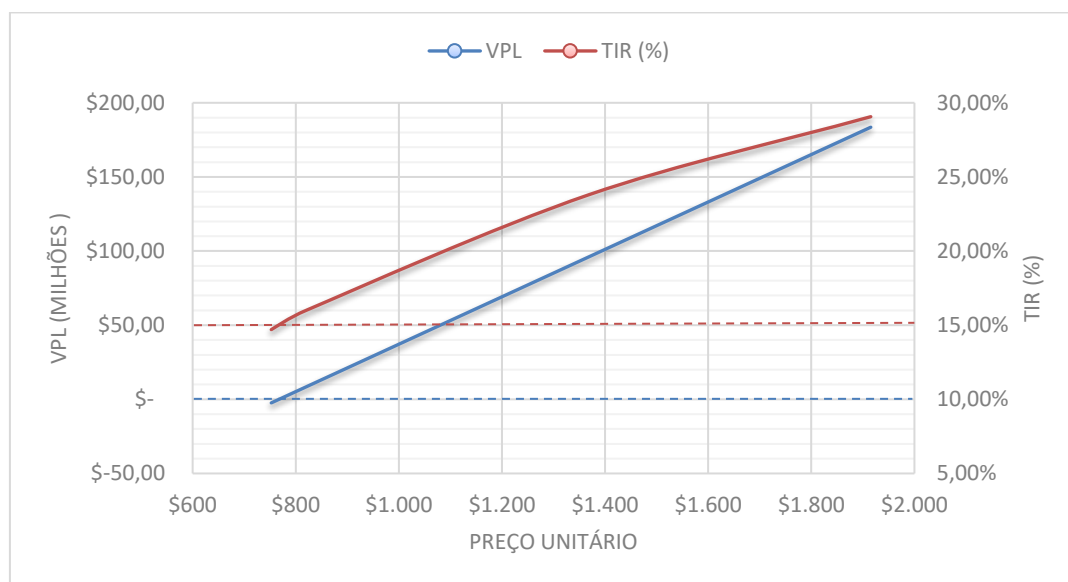


Figura 16: Análise de sensibilidade em relação ao preço unitário

### 5.9.2 Número de frascos ampolas comercializados

O Pembrolizumab por compor a lista de produtos estratégicos para o SUS (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017) possui como principal consumidor o Ministério da Saúde, que por sua vez incentiva a produção nacional através das PDPs. Nesse sentido, a demanda anual total do SUS não necessariamente será suprida apenas por um único projeto, podendo ocorrer a divisão do mercado para outras empresas com projetos com a mesma finalidade.

Dessa forma, o VPL e a TIR foram calculados em relação à variação do número de frascos ampolas comercializados anualmente (considerando menor participação do projeto no atendimento da demanda projetada), a fim de observar qual seria o impacto de uma possível queda na demanda ou dificuldade de absorção do produto pelo mercado anualmente. Observa-se pela Figura 17 que o projeto se mantém viável mesmo com a redução do número de frascos ampolas comercializados em até aproximadamente 66% da demanda projetada. Este resultado confere uma grande margem de segurança ao projeto, demonstrando que o projeto continuará sendo viável economicamente mesmo com uma grande redução do número de frascos ampolas comercializados.

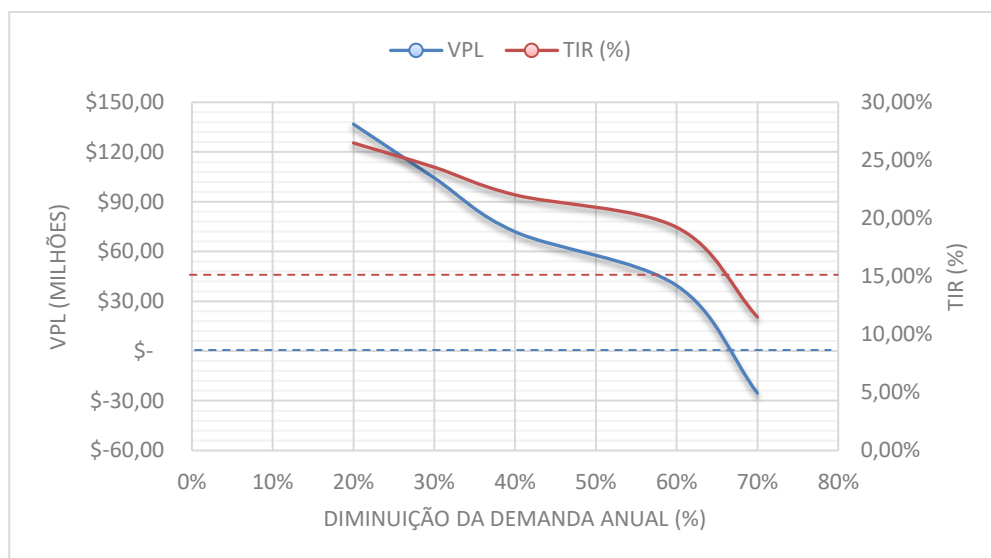


Figura 17: Análise de sensibilidade em relação à redução do número de frascos ampolas comercializado frente a demanda anual projetada

### 5.9.3 Custos para o desenvolvimento do processo, comparabilidade molecular, estudos pré-clínicos e clínicos

Os custos para o desenvolvimento do processo, comparabilidade molecular, estudos pré-clínicos e clínicos representam os maiores valores dentro da composição do investimento inicial no desenvolvimento de um biofármaco. Além disso, os valores utilizados para o projeto foram baseados numa literatura americana, sendo assim, é possível que para realidade brasileira, estes valores possam ser diferentes do que aparece na literatura.

Diversos fatores podem impactar nestes custos, tais como os custos de insumos e equipamentos, extensão do tempo de realização das etapas, complexidade em relação à coleta e tratamento dos dados, custos envolvidos com a contratação de mão-de-obra técnica, etc. Dessa forma, é importante entender o seu impacto na viabilidade do projeto.

A Figura 18 apresenta o comportamento do VPL e da TIR com relação à variação desses custos, tanto para cenários onde os custos são menores (variações negativas) quanto para cenários onde estes são mais caros (variações positivas).

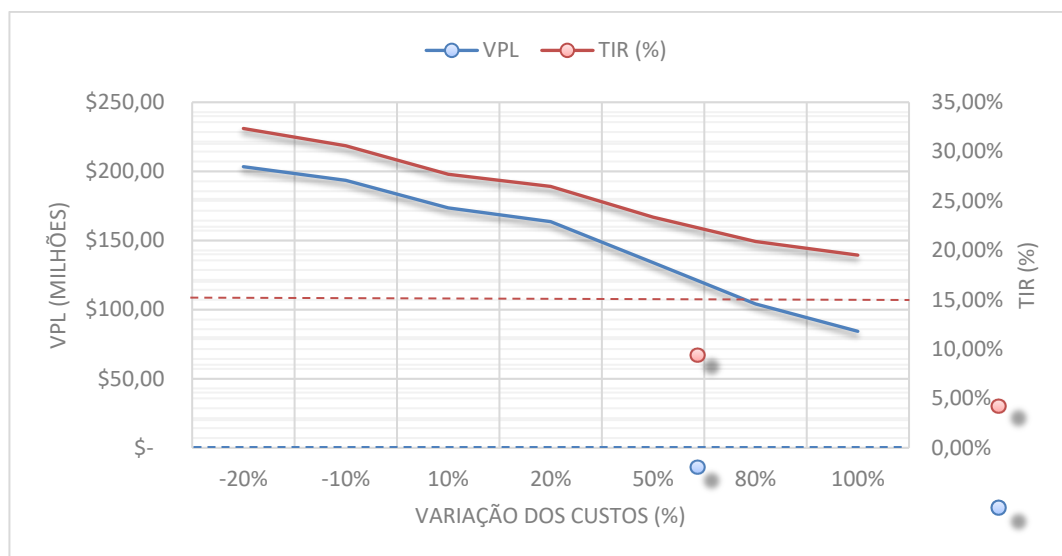


Figura 18: Análise de sensibilidade em relação ao custo para desenvolvimento do processo, comparabilidade molecular, estudos pré-clínicos e clínicos

Como esperado, observa-se que nos cenários em que estes custos são menores, os indicadores de viabilidade apresentam valores mais altos. Entretanto, no caso em que apresentam custos maiores que os valores adotados neste estudo, observa-se que há pouco impacto na viabilidade do processo, uma vez que mesmo ao dobrar seu valor (variação de +100%), o valor de VPL continua positivo e a TIR maior que a TMA. Tal resultado confere uma grande margem de segurança ao projeto, concluindo-se que o empreendimento continuará sendo viável economicamente mesmo com uma grande variação desses custos.

Destaca-se que a análise de sensibilidade de outras variáveis ligados às especificações e/ou tecnologias adotadas no processo produtivo não foi realizada, pois os custos para o desenvolvimento do processo, comparabilidade molecular, estudos pré-clínicos e clínicos são os mais relevantes dentro da composição de investimentos projetada para este projeto, conforme Figura 19. Assim, mudanças em quaisquer variáveis, conforme análise realizada para os custos deste tópico, não irão impactar significativamente na viabilidade do projeto.



Figura 19: Avaliação dos custos de investimento total do projeto

Sendo assim, a partir dos resultados obtidos na análise das três variáveis escolhidas, é possível observar que o projeto é mais sensível a variações nos fatores externos ao processo produtivo, como o preço e volume de vendas.

## 6. CONCLUSÃO

O Pembrolizumab é um anticorpo monoclonal utilizado no tratamento de diversas doenças e atualmente, é integralmente importado pelo governo brasileiro, tornando-se um gasto relevante para a saúde pública. Este fato serviu como motivação para a realização do presente estudo que avaliou a oportunidade de investimento para a produção do Pembrolizumab através de uma planta de produção localizada no Brasil para atender a demanda nacional, estimada para quatro indicações terapêuticas: câncer de pulmão de células não pequenas (CPCNP), carcinoma urotelial (UC) e câncer de cabeça e pescoço (HNSCC), melanoma.

Inicialmente, foi realizado um estudo de mercado com o objetivo de determinar a demanda pelo produto biológico. Este dado, juntamente com a projeção do crescimento da população brasileira realizado pelo IBGE, possibilitou estimar a demanda por este produto, em 2038, como 17 kg/ano.

O processo produtivo proposto se baseia no cultivo de células CHO geneticamente modificadas para produção do anticorpo monoclonal em um biorreator de tanque agitado em modo perfusão, seguido pelas etapas de *downstream* destinadas à obtenção do produto livre de impurezas, a partir de processos de cromatografia e separação por membranas e ao final, ocorre as etapas de formulação do produto final e seu processamento final.

A dimensão dos principais equipamentos que compõem o processo e a quantidade de matérias-primas e insumos necessários foram calculados com base na demanda projetada e então propostos alguns equipamentos específicos do processo produtivo, de acordo com a disponibilidade comercial e características de operação dos mesmos.

Para os cálculos de investimento e custos de produção, foi realizada cotação dos principais equipamentos e matérias-primas obtida diretamente com as empresas fornecedoras ou através de trabalhos anteriores publicados. Adotando o método baseado no custo dos equipamentos principais, o custo de investimento fixo para construção da planta produtiva foi estimado em aproximadamente US\$ 12,5 milhões. Os custos para o desenvolvimento do processo, testes pré-clínicos e clínicos e assuntos regulatórios foi estimado com base na literatura em aproximadamente US\$ 144,2 milhões. Já os custos de produção anuais foram calculados em aproximadamente US\$ 14,8 milhões.



Essas informações foram utilizadas para elaborar a demonstração do resultado do exercício e o fluxo de caixa para cada ano ao longo do horizonte temporal de 17 anos, composto pelos 7 anos iniciais de desenvolvimento tecnológico e clínico do produto, construção e validação da planta e obtenção do registro e pelos 10 anos de operação comercial da planta.

Considerando o preço de venda com uma redução de 30% do preço da aquisição atual pelo Ministério da Saúde e uma taxa mínima de atratividade (TMA) de 15%, obteve-se um lucro líquido anual médio de US\$ 152,6 milhões, valor presente líquido de US\$ 183,53 milhões, tempo de retorno do investimento de aproximadamente 2 anos e 4 meses após início da operação comercial da planta e taxa interna de retorno de 29,06%, cerca de 2 vezes superior à taxa mínima de atratividade estabelecida. Logo, o projeto apresenta-se como atrativo e viável diante dessas condições.

As análises de sensibilidade foram realizadas selecionando como variáveis críticas: o preço unitário de venda do Pembrolizumab, redução da taxa de ocupação do mercado e custos para o desenvolvimento do processo, comparabilidade molecular, estudos pré-clínicos e clínicos.

Dessa forma, a fim de verificar a robustez do projeto, a taxa interna de retorno e o valor presente líquido foram calculados sob estas diferentes variáveis, chegando-se ao resultado de que, mesmo com 70% de redução do preço de venda do Pembrolizumab, o VPL seria positivo e a TIR (16,01%) ainda seria superior à TMA estipulada (15%). Entretanto, o preço de venda de US\$ 753,06 estimado pelo relatório do CONITEC seria extremamente sensível e crítico à viabilidade do projeto, sendo necessário uma redução nos valores de investimento e custos de produção do projeto como um todo para torná-lo viável.

Em relação às vendas, o projeto passa a ser economicamente inviável quando há redução de aproximadamente 66% da demanda projetada, mostrando novamente a robustez do projeto. No entanto, é de suma importância o conhecimento do mercado, de forma que a demanda projetada seja a mais próxima possível da realidade, evitando que se produza um excedente. Dentro da projeção temporal apresentada neste trabalho para demanda do biofármaco, foi adotada uma visão conservadora ao considerar que nem todas as indicações terapêuticas seriam atendidas, porém pode-se esperar que a totalidade de frascos ampolas

produzidos consiga ser absorvido pelo mercado, sendo necessário no futuro até um aumento da escala de produção da planta.

Por fim, o custo para o desenvolvimento do processo, comparabilidade molecular, estudos pré-clínicos e clínicos apresentou-se como a variável menos crítica analisada para o presente projeto. Por representar o maior valor que compõe o investimento, era esperado que esta variável influenciasse significativamente a viabilidade do projeto, porém observou-se que mesmo ao dobrar o seu valor (variação de +100%), o projeto se mantém viável.

Dessa forma, todas as análises econômicas resultaram em um projeto economicamente viável e com uma margem de segurança que confere ao projeto capacidade de suportar grandes mudanças em diversos aspectos, se mantendo sempre viável. Isto é importante uma vez que, como o tempo de vida útil do projeto desenvolvido é de 10 anos, é impossível prever o comportamento exato de todas as variáveis envolvidas ao longo desse período.

O presente projeto foi avaliado considerando que todo o investimento realizado tem origem no capital próprio do investidor. Acredita-se que dada a importância do projeto para o país, alguma linha de financiamento público poderia ser acessada, conferindo uma taxa de juros reduzida, o que permite melhorar ainda mais os resultados encontrados.

Destaca-se como uma limitação deste estudo, a análise de mercado realizada, uma vez que não foram encontrados dados ou estudos que expusessem a quantidade de Pembrolizumab que é consumida no Brasil atualmente. Dessa forma, a metodologia adotada para projeção da demanda apresenta considerações muito incertas, tornando-se a precisão da etapa inicial do cálculo da demanda, a primeira limitação do projeto. Faz-se necessário encontrar dados mais confiáveis para se calcular uma projeção mais sólida.

Além disso, há a necessidade de aprofundamento do estudo de viabilidade técnica da produção sugerida, a partir da realização de testes em escala laboratorial com a linhagem celular a ser utilizada que confirmem os valores usados da literatura. Existem parâmetros importantes do processo como a densidade celular e a produtividade específica, que variam muito entre diferentes linhagens celulares. Como sugestão para trabalhos futuros, propõe-se estudo sobre como os valores desses parâmetros podem impactar na viabilidade do projeto. As etapas de purificação empregadas no processo proposto também devem ser validadas quanto aos seus rendimentos.

No presente estudo, considerou-se apenas o dimensionamento dos equipamentos principais do processo produtivo proposto. Propõe-se como sugestão de estudo para trabalhos futuros, o dimensionamento dos processos auxiliares, incluindo a produção de água pura e água para injeção (WFI), o descarte dos resíduos líquidos e sólidos gerados pela planta produtiva, criação de um cronograma oficial para produção e também o dimensionamento da área útil da planta, levando em consideração o espaço necessário para tubulação, sistema de gases e energia elétrica, equipamentos secundários, dispositivos de controle e segurança, estoque de matérias-primas, acessos para locomoção segura de funcionários e componentes móveis da planta.

Cabe ainda ressaltar que o investimento de US\$ 156,69 milhões neste projeto-base possibilitaria a produção nacional de um medicamento com alto valor agregado, garantindo a independência e internalização do conhecimento tecnológico e produtivo no País.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.C. CAMARGO. **Pulmão**, 2019. Disponível em: <<https://www.accamargo.org.br/sobre-o-cancer/tipos-de-cancer/pulmao>>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

ABBAS, A. K. . L. A. H. . S. **Imunologia Celular e Molecular**. 6. ed. Filadélfia: Elsevier, 2008.

ABT, B. et al. **Design of a Pembrolizumab Manufacturing Plant Using Continuous Bioprocess Technology and Single-Use Bioreactors**. University of Virginia. Charlottesville, p. 118. 2020.

AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL. **Biofármacos**, 2016. Disponível em: <<http://ats.abdi.com.br/publicações-biofármacos>>. Acesso em: 24 Dezembro 2020.

ALVES, F. C.; OROSKI, F. A. **Projeção de Demanda, Aula da disciplina de Projetos e empreendimentos no setor biofarmacêutico**. Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2019.

ANVISA. **Resolução - RDC N° 55, de 16 de Dezembro de 2010**, 2010. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0055\\_16\\_12\\_2010.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0055_16_12_2010.html)>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

ANVISA. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. **Resolução RDC nº17, de 16 de abril de 2010**, 2010. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0017\\_16\\_04\\_2010.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0017_16_04_2010.html)>. Acesso em: 16 Abril 2021.

ANVISA. **Instrução Normativa IN Nº 36, de 21 de agosto de 2019**, 2019. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-36-de-21-de-agosto-de-2019-211913888>>. Acesso em: 18 Fevereiro 2021.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Conceitos e Definições**, 2020a. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoainformacao/perguntasfrequentes/medicamentos/conceitos-e-definicoes>>. Acesso em: 05 Novembro 2020.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Bulário Eletrônico - Keytruda**, 2020b. Disponível em: <<https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/detalhe/1076976?nomeProduto=KEYTRUDA>>. Acesso em: 06 Novembro 2020.

ASSOCIATION FOR ACCESSIBLE MEDICINES. **Why Biosimilars Are Important for Patients | The Biosimilars Council**, 2018. Disponível em: <<https://biosimilarscouncil.org/blog/why-biosimilars-are-important-for-patients>>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

BECK, A. Biosimilar, biobetter and next generation therapeutic antibodies. **MAbs**, v. 3, n. 2, p. 107-110, 2011.

BETTINARDI, I. et al. Hydrocyclones as cell retention device for CHO perfusion processes in single-use bioreactors. **Biotechnology and Bioengineering**, Rio de Janeiro, v. 117, p. 1915-1928, Março 2020.

BIOSPACE. **Keytruda Approvals: A Timeline**, 2019. Disponível em: <<https://www.biospace.com/article/keytruda-approvals-a-timeline/>>. Acesso em: 25 Dezembro 2020.

BNDES. Balanço da estratégia de desenvolvimento da biotecnologia farmacêutica no Brasil: 2009-2019, Rio de Janeiro, v. 26, n. 51, p. 7-75, Março 2020. Disponível em: <[https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/19802/3/PR\\_Biotecnologia\\_BD.pdf](https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/19802/3/PR_Biotecnologia_BD.pdf)>.

BOEDEKER, B. Disposables for Biomanufacturing A User's Perspective. **BioProcess International**, v. 12, n. 8, p. 67-68, 2014.

BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA Cancer J Clin**, v. 68, n. 6, p. 394-424, 2018.

BRETAS, R. **Avaliação da capacidade instalada para a produção e certificação de células animais**. Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos. Rio de Janeiro, p. 154. 2011.

BRORSON, K. et al. Bracketed generic inactivation of rodent retroviruses by low pH treatment for monoclonal antibodies and recombinant proteins. **Biotechnol Bioeng**, v. 83, n. 3, p. 321-9, 2003.

CARVALHO, A. **Estudos Clínicos e Patentes de Anticorpos Monoclonais para o Tratamento do Câncer: um Estudo Exploratório**. Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos. Rio de Janeiro. 2013.

CARVALHO, L. et al. Production Processes for Monoclonal Antibodies. In: JOZALA, A. **Fermentation Processes**. São Paulo: IntechOpen, 2017. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/books/fermentation-processes/production-processes-for-monoclonal-antibodies#B22>>.

CARVALHO, R.; CASTILHO, L. Tools Enabling Continuous and Integrated Upstream and Downstream Processes in the Manufacturing of Biologicals. 1. ed. Rio de Janeiro: WileyVCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2017. Cap. 2.

CASANOVA-ESTRUCH, B. Safety profile and practical considerations of monoclonal antibody treatment. **Neurologia**, v. 28, n. 3, p. 169-178, 2013.

CASTILHO, L. **Biofármacos: Desenvolvimento atual**, 2010. Disponível em: <[http://ipdfarma.org.br/uploads/paginas/file/palestras/3\\_ENIFarMed/Leda\\_R\\_Castilho.pdf](http://ipdfarma.org.br/uploads/paginas/file/palestras/3_ENIFarMed/Leda_R_Castilho.pdf)>. Acesso em: 02 Janeiro 2021.

CASTILHO, L. Continuous Animal Cell Perfusion Processes: The First Step Toward Integrated Continuous Biomanufacturing. In: SUBRAMANIAN, G. **Continuous Animal Cell Perfusion Processes**. 1. ed. [S.l.]: Wiley Blackwell, 2014. Cap. 6, p. 115–154.

CASTILHO, L.; MEDRONHO, R. Cell retention devices for suspended cell perfusion cultures. In: SCHEPER, T. **Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology**:

Tools and Applications of Biochemical Engineering Science. [S.l.]: Springer, v. 74, 2002. p. 129-169.

CHEN, L. F.; VOKES, E. E. Peptic ulcer diseases. **ACP Medicine**, p. 1-8, 2008. Disponível em: <[http://www.medicinanet.com.br/conteudos/acp-medicine/4493/cancer\\_de\\_cabeca\\_e\\_pescoco.htm](http://www.medicinanet.com.br/conteudos/acp-medicine/4493/cancer_de_cabeca_e_pescoco.htm)>.

CHICO, E.; RODRÍGUEZ, G.; FIGUEREDO, A. Biorreatores para células animais. In: MORAES, A. M.; AUGUSTO, E. F. P.; CASTILHO, L. R. **Tecnologia do Cultivo de Células Animais - de Biofármacos a Terapia Gênica**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2008. Cap. 9.

CHOE, W.; DURGANAVAR, T. A.; CHUNG, S. J. Fc-Binding Ligands of Immunoglobulin G: An Overview of High Affinity Proteins and Peptides. **Materials**, v. 9, n. 12, 2016.

CHOTTEAU, V. Perfusion processes. In: AL-RUBEAI, M. **Animal Cell Culture**. 1. ed. New Delhi: Springer, v. 9, 2015. Cap. 15.

CLINCKE, M. -. et al. Very high density of CHO cells in perfusion by ATF or TFF in WAVE bioreactor™. Part I. Effect of the cell density on the process. **Cell Culture and Tissue Engineering**, v. 29, n. 3, p. 754-767, 2013.

COLLIN, M. Immune checkpoint inhibitors: the battle of giants. **Pharmaceutical Patent Analyst**, v. 6, n. 4, p. 137-139, 2017.

COLLINS, H. C.; BRAGA, L. G. **Introdução a métodos cromatográficos**. Unicamp. Campinas, p. 298. 1988. (3).

CONITEC. **Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde**, 2015. Disponível em: <<http://conitec.gov.br/entenda-a-conitec-2>>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

CONITEC. **Ministério da Saúde atualiza a Rename**, 2019. Disponível em: <<http://conitec.gov.br/ultimas-noticias-3/ministerio-da-saude-atualiza-a-rename>>. Acesso em: 27 Dezembro 2020.

CONITEC. **Ministério da Saúde incorpora imunoterapia para tratamento do melanoma**, 2020a. Disponível em: <<http://conitec.gov.br/ministerio-da-saude-incorpora-imunoterapia-para-tratamento-do-melanoma>>. Acesso em: 06 Novembro 2020.

CONITEC. Relatório de recomendação. **Terapia-alvo (vemurafenibe, dabrafenibe, cobimetinibe, trametinibe) e imunoterapia (ipilimumabe, nivolumabe, pembrolizumabe) para o tratamento de primeira linha do melanoma avançado não-cirúrgico e metastático**, 2020b. Disponível em: <[http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2020/Relatorio\\_541\\_TerapiaAlvo\\_Melanoma\\_Final\\_2020.pdf](http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2020/Relatorio_541_TerapiaAlvo_Melanoma_Final_2020.pdf)>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

CORRÊA, F. et al. Terapia-alvo versus dacarbazina no tratamento de primeira linha do melanoma avançado não cirúrgico e metastático: análise de impacto orçamentário na perspectiva do Sistema Único de Saúde, 2018-2020. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 28, n. 2, 2019.

CORVEN, E. **Technical challenges in developing biosimilar antibodies**. 3rd Annual Biosimilars & Biologics. Porto: Bioceros. 2019.

CYTIVA. **MabSelect SuRe LX protein A resin**. Disponível em: <<https://www.cytivalifesciences.com/en/us/shop/chromatography/resins/affinity-antibody/mabselect-sure-lx-protein-a-resin-p-00628>>. Acesso em: 01 Março 2021.

CYTIVA. Handbook. **Cross flow filtration method**, 2021. Disponível em: <<https://cdn.cytivalifesciences.com/dmm3bwsv3/AssetStream.aspx?mediaformatid=10061&destinationid=10016&assetid=17054>>. Acesso em: 13 Março 2021.

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO. **PORTARIA SCTIE/MS Nº 23, DE 4 DE AGOSTO DE 2020**, 2020. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/web/dou/-/portaria-sctie/ms-n-23-de-4-de-agosto-de-2020-270470978>>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

DOUGLAS, J. M. **Conceptual Design of Chemical Processes**. 1. ed. Nova York: McGraw-Hill, 1998.

ESPARTEIRO, J. **Medicamentos biossimilares – regulamentação europeia e nacional e acesso ao mercado**, 2016. Disponível em: <[https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/editor2/Colegios\\_de\\_Especialidade/Titulo\\_Especialidade/Especialidade\\_AR/Especialistas\\_Anteriores/2016/2016\\_Joana\\_Esparteiro.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/editor2/Colegios_de_Especialidade/Titulo_Especialidade/Especialidade_AR/Especialistas_Anteriores/2016/2016_Joana_Esparteiro.pdf)>. Acesso em: 24 Dezembro 2020.



EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **Keytruda (pembrolizumab)**, 2020. Disponível em: <<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/keytruda>>. Acesso em: 05 Novembro 2020.

EVALUATE LTD. **EvaluatePharma® World Preview 2018, Outlook to 2024**, 2018. Disponível em: <<https://www.evaluate.com/thought-leadership/pharma/evaluatepharma-world-preview-2018-outlook-2024>>. Acesso em: 06 Novembro 2020.

FERREIRA, J. S. G.; CASTILHO, L. R.; PAIVA, S. P. **Produção de Pectinases para a Indústria de Bebidas**. Projeto Final de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) - Escola de Química/UFRJ. Rio de Janeiro. 1995.

FIALHO, I. **Imunoterapia do Melanoma Metastático**. Universidade de Lisboa. Lisboa, p. 61. 2017.

FOLHA DE SÃO PAULO. **Conitec recomenda incorporação de dois imunoterápicos para melanoma ao SUS**, 2020. Disponível em: <<https://www1.folha.uol.com.br/equilibrioesaude/2020/07/conitec-recomenda-incorporacao-de-dois-imunoterapicos-para-melanoma-ao-sus.shtml>>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

FREYSD'OTTIR, J. Production of monoclonal antibodies. **Methods Mol Med.**, v. 40, p. 267-79, 2000.

FXTOP. **Calculadora de inflação**, 2021. Disponível em: <<https://fxtop.com/pt/calculadora-de-inflacao.php>>. Acesso em: 17 Abril 2021.

GAUGHAN, C. L. The present state of the art in expression, production and characterization of monoclonal antibodies. **Molecular Diversity**, Agosto 2015. 1-16.

GE HEALTHCARE. **BPG Columns Operating Instructions**, 2016a. Disponível em: <<https://www.gelifesciences.co.kr/wp-content/uploads/2020/04/User-manual-BPG-column.pdf>>. Acesso em: 01 Março 2021.

GE HEALTHCARE. **XK columns**, 2016b. Disponível em: <[http://www.gelifesciences.co.kr/wp-content/uploads/2016/07/XK\\_column\\_instruction\\_2012\\_-\\_litdoc28992023\\_20120626104814.pdf](http://www.gelifesciences.co.kr/wp-content/uploads/2016/07/XK_column_instruction_2012_-_litdoc28992023_20120626104814.pdf)>. Acesso em: 05 Março 2021.

GOMES, E. **Clusters e biotecnologia para a superação da imitação: estudo de caso da indústria farmacêutica brasileira**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2014.

GOMES, E. et al. Desenvolvimento de Biossimilares no Brasil. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science** , v. 5, n. 1, p. 31-42, 2016.

GONZAGA, C. S. B.; COTRIM, M. P.; RIBAS, R. C. **Projeto de uma planta para a produção de Fator IX recombinante**. Projeto Final de Curso, EQ/UFRJ. Rio de Janeiro. 2009.

GREINER BIO-ONE. Foco na ciência. **Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)**, 2020. Disponível em: <[https://www.gbo.com/pt\\_BR/novidades-e-eventos/noticias/ultimas-noticias/news-detail/news/detail/News/foco-na-ciencia-reacao-em-cadeia-de-polymerase-pcr.html](https://www.gbo.com/pt_BR/novidades-e-eventos/noticias/ultimas-noticias/news-detail/news/detail/News/foco-na-ciencia-reacao-em-cadeia-de-polymerase-pcr.html)>. Acesso em: Janeiro 2021.

GUERRA, G. Jusbrasil. **Direito ao acesso a medicamentos de alto custo pelo SUS**, 2013. Disponível em: <<https://gabrielaguerra.jusbrasil.com.br/artigos/111820957/direito-ao-acesso-a-medicamentos-de-alto-custo-pelo-sus>>. Acesso em: 31 Janeiro 2021.

GULINAC, M. et al. Increased PD-L1 expression in high-grade bladder cancer with squamous cell differentiation in Bulgarian and French patients' samples. **Annals of Diagnostic Pathology**, v. 49, 2020.

GUTIERREZ, B. **Financial Analysis of Biosimilar Development Candidates: A Case Study on the US Biosimilar Business**. Master's thesis, Harvard Extension School. Cambridge. 2015.

HARTT, V. OncoNews. **Baixa prevalência da expressão de PD-L1 no câncer de pulmão no Brasil**, 2018. Disponível em: <<https://www.onconews.com.br/site/coberturasespeciais/2018/asco-2018/3365-estudo-identifica-menor-express%C3%A3o-de-pd-l1-no-cpnpc-no-brasil.html>>. Acesso em: 31 Janeiro 2021.

IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF**, 2008. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/protecao-social/9050-pesquisa-de-orcamentos-familiares.html?=&t=o-que-e>>. Acesso em: 31 Janeiro 2021.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Projeções da População. **Projeções da População do Brasil e Unidades da Federação por sexo e idade: 2010-2060**, 2018. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/9109-projecao-da-populacao.html?=&t=o-que-e>>. Acesso em: 31 Janeiro 2021.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Câncer de estômago**, 2020a. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-estomago#:~:text=O%20c%C3%A2ncer%20de%20est%C3%B4mago%20tamb%C3%A9m,cerca%20de%203%25%20dos%20casos.>>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Linfoma de Hodgkin**, 2020b. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/linfoma-de-hodgkin>>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estimativa 2020**: incidência de câncer no Brasil, 2020c. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil>>. Acesso em: 31 Janeiro 2020.

INTERFARMA. **Entendendo os medicamentos biológicos**, 2012. Disponível em: <<https://www.interfarma.org.br/public/files/biblioteca/34-biologicos-site.pdf>>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

INTERFARMA. **Biofármacos**: a nova geração de insumos para a indústria farmacêutica, 2016. Disponível em: <<https://www.interfarma.org.br/noticias/1020>>. Acesso em: 2 Janeiro 2021.

INTERFARMA. **Brasil gasta R\$ 7 bilhões com ações de Justiça na área da Saúde, diz Gebran Neto**, 2018. Disponível em: <<https://www.interfarma.org.br/noticias/1585>>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

IVT. **Ultrafiltração e Diafiltração**, 2013. Disponível em: <<https://www.ivtnetwork.com/article/ultrafiltration-and-diafiltration>>. Acesso em: 2 Janeiro 2021.

JOHNSON, S. A. et al. Adapting viral safety assurance strategies to continuous processing of biological products. **Biotechnol Bioeng**, v. 114, n. 1, p. 21-32, 2017.

KADRI, K. Polymerase Chain Reaction (PCR): Principle and Applications. In: NAGPAL, M. **Synthetic Biology - New Interdisciplinary Science**. London: IntechOpen, 2019.

KANG, S. P. et al. Pembrolizumab KEYNOTE-001: An adaptive study leading to accelerated approval for two indications and a companion diagnostic.. **Ann Oncol.**, v. 28, n. 6, p. 1388–98, 2017.

KELLEY, B. Kelley B. Industrialization of mAb production technology: the bioprocessing industry at a crossroads. **MAbs**. 2009;1(5):443-452. doi:10.4161/mabs.1.5.9448. **MAbs**, v. 1, n. 5, 2009.

KIM, J. Y.; KIM, Y. G.; LEE, G. M. CHO cells in biotechnology for production of recombinant proteins: current state and further potential. **Applied Microbiology and Biotechnology** , v. 93, p. 917-30, 2012.

KORNECKI, M. et al. Accelerating Biomanufacturing by Modeling of Continuous Bioprocessing—Piloting Case Study of Monoclonal Antibody Manufacturing. **Processes**, v. 7, n. 495, 2019.

LONBERG, N.; HUSZAR, D. Human antibodies from transgenic mice. **Int Rev Immunol**, n. 13, p. 65-93, 1995.

MARQUES, C. **Aspectos fundamentais à implantação da tecnologia de produção de anticorpos monoclonais humanizados com potencial aplicação terapêutica**. Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, p. 109. 2005.

MERCK & CO. Manual MSD. **Câncer de esôfago**, 2019a. Disponível em: <<https://www.msdmanuals.com/pt/casa/dist%C3%BArbios-digestivos/tumores-do-sistema-digestivo/c%C3%A2ncer-de-es%C3%B4fago>>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

MERCK & CO. Manual MSD. **Carcinoma de células renais**, 2019b. Disponível em: <<https://www.msdmanuals.com/pt/profissional/dist%C3%BArbios-genitourin%C3%A1rios/c%C3%A2ncer-genitourin%C3%A1rio/carcinoma-de-c%C3%A9lulas-renais#:~:text=Carcinoma%20de%20c%C3%A9lulas%20renais%20%C3%A9,e%20febre%20de%20origem%20indeterminada.>>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

MERCK & CO. **Keytruda**, 2020. Disponível em: <<https://www.keytruda.com/>>. Acesso em: 25 Dezembro 2020.

MERCK MILLIPORE. **Virus Retention Performance of Viresolve® Pro Devices under a Range of Processing Conditions**. Burlington. 2019.

MERCK SHARP & DOHME B.V. **BRPI0812913B1**, 2008. Disponível em: <<https://patents.google.com/patent/BRPI0812913B1/en>>. Acesso em: 2 Janeiro 2021.

MICHNICK, S. W.; SIDHU, S. S. Submitting antibodies to binding arbitration. **Nature Chemical Biology**, v. 4, n. 6, p. 326-329, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria nº 2.531, de 12 novembro de 2014.**, 2014. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt2531\\_12\\_11\\_2014.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt2531_12_11_2014.html)>. Acesso em: 24 Dezembro 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria Nº 704, de 8 de março de 2017**, 2017. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prt0704\\_10\\_03\\_2017.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prt0704_10_03_2017.html)>. Acesso em: 27 Dezembro 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Relatório do Grupo de Trabalho para discussão e formulação da Política Nacional de Medicamentos Biológicos no âmbito do Sistema Único de Saúde**, 2018a. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/setembro/30/Relatorio-final-GT-Bio.pdf>>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria Nº731, de 26 de março de 2018**, 2018b. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2018/prt0731\\_27\\_03\\_2018.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2018/prt0731_27_03_2018.html)>. Acesso em: 27 Dezembro 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Parcerias para o Desenvolvimento Produtivo (PDP)**, 2020a. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/p/parcerias-para-o-desenvolvimento-produtivo-pdp>>. Acesso em: 27 Dezembro 2020.

MINISTERIO DA SAÚDE. **Biotecnológicos - Medicamentos, Vacinas e Hemoderivados**, 2020b. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2020/novembro/04/pdp/medicamento-vacina-e-hemoderivados-parcerias-vigentes-plataformas-biotecnologicos.pdf>>. Acesso em: 27 Dezembro 2020.

MIRANDA, M. **Projeto de uma planta para produção do anticorpo monoclonal Rituximabe**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2016.

MSD IRELAND. **Attachment 4.8.1 Operational Report - Application ID LA001652**. Dublin. 2019.

MURPHY, K.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. **Imunobiologia de Janeway**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

NICKISCH, K.; BODE-GREUEL, K. NPV modelling for the selection of value-creating biosimilar development candidates. **Journal of Commercial Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 24–32, 2013.

NOVARTIS. **Melanoma Metastático**, 2017. Disponível em: <<https://saude.novartis.com.br/melanoma-metastatico/o-que-e-melanoma/>>. Acesso em: 26 Dezembro 2020.

OLIVEIRA, J. **Projeto de uma planta para produção de Bevacizumab para atender parcialmente a demanda brasileira**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2016.

PALL. **Cadence™ Inline Diafiltration Module**, 2021. Disponível em: <<https://shop.pall.com/us/en/biotech/continuous-processing/in-line-diafiltration/zidgri66603>>. Acesso em: 13 Março 2021.

PETERS, M. S.; TIMMERHAUS, K. D. **Plant Design and Economics for Chemical Engineers**. 4. ed. New York: McGraw-Hill, 1991.

PUGA, T. Carcinoma pulmonar. **Momento Saúde**, 2020. Disponível em: <<https://www.momentosaude.com.br/2020/08/20/carcinoma->

pulmonar/#:~:text=Ele%20cresce%20rapidamente%20e%20cerca,t%C3%B3rax%20no%20m  
omento%20do%20diagn%C3%B3stico.>. Acesso em: 31 Janeiro 2021.

RIBEIRO, D. et al. CARCINOMA UROTELIAL DE TRATO URINÁRIO SUPERIOR MULTIFOCAL DE ALTO GRAU. **UroMinas**, v. 3, n. 9.

ROQUE, A. C.; LOWE, C.; TAIPA, A. M. “Antibodies and genetically engineered related molecules: production and purification”. **Biotechnology Progress** **20**, p. 639-654, 2004.

SALERMO, M. S.; MATSUMOTO, C.; FERRAZ, I. **Biofármacos no Brasil: características, importância e delineamento de políticas públicas para o seu desenvolvimento**. Ipea. Brasília, p. 88. 2018.

SANTOS, M. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. **Rev. Bras. Cancerol.**, v. 60, n. 1, p. 119-20, Março 2018.

SARTORIUS. Application Guide. **Virosart® HF**: High Speed Virus Filtration for mAbs and Recombinant Proteins, 2019. Disponivel em: <<https://www.sartorius.com/download/90054/3/appl-guide-virus-filtration-virosart-hf-e-data.pdf>>.

SCHENEIDER, S. et al. D-1 and PD-L1 expression in HNSCC primary cancer and related lymph node metastasis - impact on clinical outcome. **Histopathology**, v. 73, n. 4, p. 573-584, 2018.

SCUTTI, J. et al. Carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (HNSCC): desvendando os mistérios do microambiente tumoral. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v. 70, n. 2, 2016.

SECRETARIA DA FAZENDA E PLANEJAMENTO DO ESTADO DE SÃO PAULO. **ICMS**, 2021. Disponível em: <<https://portal.fazenda.sp.gov.br/acessoinformacao/Paginas/ICMS.aspx#:~:text=ICMS%20C3%A9%20a%20sigla%20que,Saiba%20mais.>>. Acesso em: 01 Maio 2021.

SEDINI, S. Instituto de Estudos Avançados da Universidade de São Paulo. **A Pesquisa em Anticorpos Monoclonais no Brasil: O que Está Direcionando a Produção de**

Conhecimento?, 2017. Disponível em: <<http://www.iea.usp.br/eventos/a-pesquisa-em-anticorpos-monoclonais-no-brasil>>. Acesso em: 24 Dezembro 2020.

SEGURA, T. C. A. **Projeto e Avaliação Econômica de uma Planta Industrial para Produção de Trastuzumabe no Brasil**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2016.

SHEN, C. H. Quantification and Analysis of Proteins. **Diagnostic Molecular Biology**, p. 187-214, 2019.

SILVA, L. **Estudo preliminar de viabilidade técnico-econômica relativo à produção de uma nova vacina recombinante contra febre amarela**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2020.

SILVA, M. **Proteção de anticorpos monoclonais via patente de invenção: comparação das estratégias utilizadas nos escritórios americano, brasileiro e europeu**. INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL. [S.l.]. 2019.

SILVEIRA, C.; PETROCÍNIO, F.; BRAGA, J. **Produção de Fator VIII recombinante**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2005.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ONCOLOGIA CLÍNICA. SBOC. **Pembrolizumabe já pode ser prescrito para pacientes com carcinoma urotelial avançado na 2ª linha**, 2017. Disponível em: <[sbo.org.br/noticias/item/1121-pembrolizumabe-ja-pode-ser-prescrito-para-pacientes-com-carcinoma-urotelial-avancado-na-2-linha](http://sbo.org.br/noticias/item/1121-pembrolizumabe-ja-pode-ser-prescrito-para-pacientes-com-carcinoma-urotelial-avancado-na-2-linha)>. Acesso em: 31 Janeiro 2021.

TEVA, A.; FERNANDEZ, C. C.; SILVA, V. L. **Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz Venâncio, Escola Politécnica de Saúde Joaquim, v. 3, 2013.

THE NOBEL ASSEMBLY AT KAROLINSKA INSTITUTET. **The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2018 to James P. Allison and Tasuku Honjo**, 2018. Disponível em: <<https://news.ki.se/the-nobel-prize-in-physiology-or-medicine-2018-to-james-p-allison-and-tasuku-honjo>>. Acesso em: 24 Dezembro 2020.



THERMOFISHER. **Protein A Chromatography Resins**, 2019. Disponível em: <<https://www.thermofisher.com/br/en/home/life-science/bioproduction/poros-chromatography-resin/bioprocess-resins/poros-mabcapture-a-select-chromatography-resins.html>>. Acesso em: 2021 Março 2021.

THIE, H. et al. Phage display derived therapeutic antibodies. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 9, n. 6, p. 439–446, 2008.

TOLEDO, M. **Comparativo entre inspeção automática e inspeção visual manual da vacina tríplice viral e análise de riscos de seu processo produtivo em bio-manguinhos**. Monografia (Especialização) - Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos. Rio de Janeiro. 2014.

VULTO, A. G.; JAQUEZ, O. A. The process defines the product: what really matters in biosimilar design and production? **Rheumatology**, Oxford, v. 56, n. 4, p. 14-29, 2017.

WALSH, G. Biopharmaceutical benchmarks 2018. **Nature Biotechnology**, Londres, v. 36, p. 1136-1145, 2018.

WANG, M. et al. Identification of a monoclonal antibody that targets PD-1 in a manner requiring PD-1 Asn58 glycosylation. **Communications Biology**, v. 2, p. 392, Outubro 2019.

WARNOCK, J. N.; AL-RUBEAI, M. Bioreactor systems for the production of biopharmaceuticals from animal cells. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 45, n. 1, p. 1, 2006.

WEINER, L. M.; MURRAY, J. C.; SHUPTRINE, C. W. "Antibody-Based Immunotherapy of Cancer". **Elsevier**, v. 148, p. 1081-1084, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations**. WHO Technical Report Series. Geneva, p. 220. 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines on viral inactivation and removal procedures intended to assure the viral safety of human blood plasma products**. WHO Technical Report. Geneva, p. 82. 2004. (924).

ZHAO, M. et al. Rapid development of stable transgene CHO cell lines by CRISPR/Cas9-mediated site-specific integration into C12orf35. **Appl Microbiol Biotechnol.**, v. 102, n. 14, p. 6105-6117, 2018.

ZHENG, F.; RASMUSSEN, H. Use of Orthogonal Methods During Pharmaceutical Development: Case Studies. **Special Issues**, v. 27, n. 4, 2009.